

**IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA DETERMINACIÓN DE
MELAMINA, FORMALDEHÍDO, AMINAS AROMÁTICAS PRIMARIAS Y
METALES PESADOS EN ALIMENTOS PARA LA PRUEBA DE MIGRACIÓN
ESPECÍFICA EN ALIMENTOS EN CONTACTO CON PLÁSTICOS**

NIDIA CATALINA MORALES TORRES.

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍAS

PROGRAMA QUÍMICA INDUSTRIAL

PEREIRA

2017.

IMPLEMENTACIÓN DE METODOLOGÍAS PARA DETERMINACIÓN DE
MELAMINA, FORMALDEHÍDO, AMINAS AROMÁTICAS PRIMARIAS Y METALES
PESADOS EN ALIMENTOS PARA LA PRUEBA DE MIGRACIÓN ESPECÍFICA
EN ALIMENTOS EN CONTACTO CON PLÁSTICOS

NIDIA CATALINA MORALES TORRES

Modalidad: Trabajo de investigación formativo

Para optar el título de Químico Industrial

Director del proyecto:

Ariel Felipe Arcila Zambrano.

Químico Industrial

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍAS

PROGRAMA QUÍMICA INDUSTRIAL

PEREIRA

2017

TABLA DE CONTENIDO.

	Página
LISTA DE TABLAS.	4
OBJETIVOS	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVO ESPECIFICO	5
RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1 Tipos de migración de acuerdo al número de sustancias migrantes	12
1.2 Factores que afectan la migración	12
1.3 Aspectos legislativos	14
1.4 Riesgos para la salud	15
2. METODOLOGÍAS	20
2.1.1 Determinación de aminas aromáticas libres NTC 5088	20
2.1.2 Determinación de aminas aromáticas primarias DIN 55610	23
2.2.1 Métodos de ensayo para determinar metales pesados NTC 5092	33
2.2.2 Método de ensayo para determinar metales pesados COVENIN	54
2.3.1 Determinación de melamina y formaldehído (investigación)	59
2.3.2 Determinación de melamina y sus derivados en alimentos (Tesis)	63
3. CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFÍA	73

LISTA DE TABLAS.

	Página
Tabla 1. Límites máximos permitidos de metales pesados.	15
Tabla 2. Sistema cromatografía de capa delgada	26
Tabla 3. Volúmenes de la solución patrón de plomo	34
Tabla 4. Cantidades de Arsénico y reactivos	39
Tabla 5. Volúmenes de la solución patrón de Mercurio	42
Tabla 6. Volúmenes de la solución patrón de Bario	45
Tabla 7. Volúmenes de la solución patrón de Cromo	46
Tabla 8. Volúmenes de la solución patrón de Cadmio	48
Tabla 9. Límite máximo de metales pesados en pigmentos (Venezuela)	54
Tabla 10. Estudio del porcentaje de recuperación Melamina-Formaldehído	61
Tabla 11. Condiciones LC-DAD y LC APCI-MS	67
Tabla 12. Datos de validación del método LC-APCI-MS	69

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

- Implementación de las metodologías para la determinación de pruebas de migración global y específica de los materiales plásticos (polietilenos y polipropilenos) que están en contacto directo con los alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Realizar una revisión bibliográfica para las determinaciones de elementos nocivos para la prueba de migraciones específicas, tales como: Melamina, formaldehído, aminas aromáticas primarias y metales pesados, identificación de los riesgos asociados a la presencia de estos compuestos en los alimentos al estar en contacto directo con recipientes plásticos, adicionalmente, la identificación de las enfermedades en el ser humano al consumir estos productos contaminados.
- Documentar los límites de migración global y específica de sustancias que son transferidas a los alimentos por medio de los envases plásticos de acuerdo a reglamentos internacionales, e identificar las concentraciones permitidas según normatividad colombiana.
- Elaborar documento con metodologías que determinen melamina, formaldehído, aminas aromáticas primarias y metales pesados, presentes en los alimentos debido al contacto directo con envases plásticos por migración específica, para la revisión y posible implementación en el Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

RESUMEN

Con el fin de obtener alimentos óptimos para el consumo humano, es necesario conocer los riesgos a los que está expuesto el producto desde su elaboración, conservación y distribución, este tema involucra directamente a los materiales que están en contacto directo con ellos, los empaques, pueden ser plásticos, metálicos, de vidrio o papel, estos envases son los que regularmente contaminan al alimento alterando sus características fisicoquímicas y sus niveles de nutrición, por esta razón, es necesario desarrollar metodologías para determinar las posibles interacciones entre envase-producto, con la revisión bibliográfica realizada se obtuvo diferentes procedimientos para detectar algunos compuestos que contaminan el alimento como son: Aminas aromáticas primarias, metales pesados, melamina y formaldehído, las metodologías obtenidas corresponden a normas oficiales de la Unión Europea, de Colombia y de Venezuela, excepto la determinación de melamina y formaldehído, que, según la revisión, no hay procedimientos oficiales para detectar estos dos productos, por lo tanto, fue necesario documentar trabajos de investigación que nos sirven de apoyo para una revisión y una posible implementación en el Laboratorio de Análisis de Aguas y Alimentos de la Universidad Tecnológica de Pereira.

INTRODUCCIÓN

El principal propósito de los empaques en los alimentos es preservar y proteger los alimentos de riesgos físicos, químicos y microbiológicos, los cuales pueden afectar su seguridad y calidad.

A pesar del propósito de los empaques plásticos, su uso trae consigo inconvenientes que aparecen con los diversos aditivos que se incorporan en su producción ya sea para facilitar su procesamiento o para garantizar su estabilidad y propiedades mecánicas. Dichos aditivos son responsables de fenómenos de migración desde los empaques plásticos hacia los alimentos, convirtiéndose así en una fuente de contaminación de los alimentos, alterando algunas veces sus propiedades organolépticas así como las nutricionales y afectando la salud de los consumidores.

La aparición de estos inconvenientes ha hecho necesario desarrollar regulaciones y normas para el control de calidad de empaques plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Uno de los principales ensayos que están regulados a nivel mundial para evaluar la inocuidad de los empaques y envases plásticos, es la migración global y específica.

Por esta razón, es necesario realizar la búsqueda de metodologías para determinar migraciones específicas de los siguientes compuestos: Melamina, formaldehído, aminas aromáticas primarias y contenido de metales, que son perjudiciales para la salud.

1. MARCO TEORICO

En las últimas décadas ha crecido la preocupación de la población por la seguridad de los alimentos, los consumidores buscan que los productos alimenticios existentes en los supermercados, tiendas y demás establecimientos comerciales estén en óptimas condiciones para su consumo y que la tecnología utilizada en su elaboración, conservación y distribución cumplan las normas mínimas de calidad.

Para la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), “Existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana”.

Podemos definir contaminación alimentaria como la introducción o la presencia de contaminantes en los alimentos que suponen un riesgo para la salud humana. Los contaminantes son, por tanto, “agentes de peligro” presentes en los alimentos que hacen que éstos pierdan su inocuidad. Lógicamente, estas alteraciones conllevan un riesgo sanitario para las personas que consumen esos productos.

Los contaminantes de los alimentos pueden pertenecer a dos grandes grupos o categorías bióticos y abióticos.

- **Contaminante Biótico:** Hace referencia a seres vivos y, en el caso de la contaminación de los alimentos, incluye sobre todo a microorganismos (bacterias y virus) y parásitos, es la principal causa de problemas de salud en relación con el consumo de alimentos.
- **Contaminante Abiótico:** Son aquellas sustancias químicas que pueden incorporarse accidentalmente en los alimentos y cuya presencia provoca normalmente efectos no deseados en el consumidor. Entre los contaminantes químicos que pueden hallarse en los alimentos se puede mencionar los metales pesados, los plaguicidas, los fármacos de uso veterinario, las toxinas naturales como las micotoxinas, los compuestos procedentes del envasado de los alimentos, hidrocarburos aromáticos, policíclicos, compuestos nitrosados como las nitrosaminas y las dioxinas, compuestos halogenados persistentes como los bifenilos policlorados (PCBS), etc.

En este contexto la calidad y seguridad de los alimentos depende de los esfuerzos de todos los que participan en la compleja cadena desde el procesamiento, transporte, producción hasta consumo del producto, por lo que la Seguridad Alimentaria es una responsabilidad compartida y la realidad global de nuestros días exige unificar y coordinar los controles aplicables en los distintos países en materia de seguridad alimentaria, con el fin de garantizar que los consumidores de todo el mundo tengan acceso a alimentos seguros.

Es por esto que se han adelantado diversos controles para garantizar la inocuidad de los alimentos, sin embargo, estos controles deben ir acompañados de una estricta vigilancia de los envases que estarán en contacto con estos alimentos ya que pueden interferir en la calidad de dichos productos alterando sus características físico-químicas y nutricionales.

En la sociedad actual, el envasado es fundamental y esencial, cubre, realza y protege los artículos que compramos, desde el procesado y manufactura pasando por el manipulado y almacenamiento, hasta el consumidor final. Sin el envasado los modernos canales de venta serían casi imposibles.

A pesar de la importancia y del papel crucial que juega el envasado, es a menudo considerado como un mal necesario, además a la vista de muchos consumidores el envase es, en el mejor de los casos como algo superfluo, y en el peor como un serio derroche de recursos y una amenaza medioambiental. Este punto de vista surge debido a que las funciones que el envase realiza son desconocidas o no totalmente tenidas en cuenta. Cuando la mayoría de los consumidores entra en contacto con un envase, su función en la mayoría de los casos ha finalizado, y es quizás comprensible, que por esto no sea valorado.

Entre las funciones del envase se encuentran la de contener el producto (función esencial) y mantener la calidad del mismo. Sin embargo, hay una característica muy importante, y que se debe exigir a todos los envases, y es que no se produzcan interacciones con el contenido del mismo. Las modernas técnicas de envasado, con la utilización de nuevos materiales, han solucionado muchos problemas de higiene pero plantean otros nuevos. Hay que asegurarse que los materiales utilizados no sean tóxicos o susceptibles de interaccionar con los alimentos que van a contener.

En la actualidad, para el IFST (Institute of Food Science and Technology) se distinguen tres niveles de acción:

1. Envase primario o envase de venta: Unidad individual en contacto directo con el alimento. Sus principales funciones son contener, proteger y facilitar la distribución y almacenamiento del alimento, además de cumplir con los requerimientos demandados por el consumidor en lo referente a su seguridad y comodidad de uso.
2. Envase secundario o colectivo: Utilizado a menudo como protección física del producto. Es muy útil en cuestiones de marketing y logística, ya que puede llevar diferente información de producción (número de lote, etc), este envase facilita el manejo del envase primario durante su almacenamiento y distribución protegiéndolo de daños mecánicos.
3. Envase terciario o de expedición: Incorpora al sistema final de transporte.

Los principales materiales usados en la industria alimentaria para empaclar y/o embalar los productos que son regulados bajo las directrices de la FDA (Food and Drug Administration), son vidrio, metal, papel, cartón y plástico.

- Vidrio: Este tipo de recipiente, posee importantes cualidades para el envasado, como su impermeabilidad al paso de gases, inercia química, gran resistencia a la presión interna y a las altas temperaturas sin perder sus propiedades, por estas razones el vidrio es muy utilizado como empaque para alimentos, aunque la interacción con el producto es mínima, los materiales empleados en estos envases, aportan elementos alcalinos al contenido, sin embargo los niveles no son detectables, no modifican las características organolépticas del alimento y no afectan al consumidor.
- Metal: Recipiente de acero, aluminio, estaño o cromo, estos envases no se utilizan en contacto directo con los alimentos, salvo en casos excepcionales donde se pretende obtener mejores características de los contenidos. Generalmente, la interacción alimento-metal es indeseable y por lo tanto se emplean lacas sanitarias que aíslan los contenidos de los materiales de protección. Las lacas sanitarias son en términos generales, polímeros artificiales o plásticos como comúnmente se les conoce a este tipo de materiales sintéticos. Las principales propiedades de los materiales metálicos como materia prima para la fabricación de envases y embalajes son la resistencia mecánica, ligereza, hermeticidad, opacidad a luz, radiaciones, conductividad térmica, versatilidad etc.

- **Papel y Cartón:** Estos dos materiales, solos o en combinación con otros, ha sido usados en el envasado alimentario o en contacto con alimentos durante muchos años. Ambos están hechos a partir de fibras de celulosa que son obtenidas de árboles. Químicamente, la celulosa pura consiste en largas cadenas de β -glucosa de peso molecular variable. La celulosa tiene una estructura lineal o fibrosa, en la que se establecen múltiples puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de distintas cadenas de glucosa, haciéndolas impenetrables al agua, y originando fibras compactas que constituyen la pared de las células vegetales. Estas fibras se agrupan entre ellas en haces, y estos dan lugar a la fibra de papel, sin embargo, estos materiales pueden presentar interacciones con el alimento, generalmente en menor grado, porque los alimentos protegidos con estos tipos de envases se encuentran usualmente en estado sólido. Cuando los alimentos se encuentran en estado líquido se presentan altos contenidos de lípidos, se dan interacciones apreciables entre el material del envase y el contenido. Se observa en ocasiones, cuando no se emplean los materiales adecuados, que los compuestos, en particular los lípidos manchan el empaque.
- **Plástico:** Materiales formados por polímeros orgánicos, sintéticos o derivados de compuestos naturales, a los cuales se pueden agregar varios tipos de aditivos, pigmentos o colorantes y que pueden ser moldeados para obtener diversas formas, normalmente mediante calor y presión. Este tipo de productos son muy utilizados en muchos sectores de la industria, los plásticos juegan un papel vital en la mejora del rendimiento y competitividad de las aplicaciones, su éxito se debe a una combinación de varias ventajas como: Son materiales muy ligeros debido a su baja densidad, son fácilmente moldeables, lo que facilita la obtención de productos complejos sin demasiado gasto de energía, son materiales aislantes eléctricos, la corriente no se conduce a través de ellos y térmicos, son resistentes a la corrosión y a los ataques de distintos agentes químicos.

Sin embargo, el alimento a través del envase está expuesto a la acción de factores externos físicos, químicos y microbiológicos que contribuyen a su alteración, por lo tanto en el producto envasado pueden suceder interacciones entorno-envase-alimento correspondientes a tres fenómenos:

- ✓ **Permeación:** Fenómeno físico-químico donde ocurre una transferencia de materia y energía a través del material que constituye el envase o el material que está en contacto con el alimento, este fenómeno puede suceder en ambas direcciones (alimento hacia entorno o viceversa).

- ✓ Sorción: Proceso de transferencia de masa del alimento al envase provocando la pérdida de sustancias que contiene un producto y que son esenciales para su conservación, suelen ser sustancias volátiles formadas por moléculas orgánicas de muy bajo peso molecular, que aportan los aromas al producto.
- ✓ Migración: Proceso de transferencia de materia desde el material al alimento durante su almacenamiento o preparación, la incorporación de las sustancias migrantes al producto pueden incidir en su calidad y seguridad, al alterarse sus propiedades organolépticas y en su seguridad en el caso de que los compuestos que migran tengan carácter tóxico, del mismo modo, la pérdida de componentes del material en contacto con alimentos puede afectar su estabilidad.

De estas interacciones, el proceso de migración de residuos y aditivos del material en contacto con alimentos es la que más afecta la calidad y seguridad de los productos. La migración puede ocurrir del material de contacto al alimento o viceversa.

1.1 Tipo de migración de acuerdo al número de sustancias migrantes:

Dos tipos de migración se han definido para el estudio de sustancias que migran desde empaques plásticos hacia los alimentos, estas son la migración global y la migración específica.

Migración Global: Cantidad de componentes transferidas desde los materiales en contacto con los alimentos o bebidas hacia ellos, en las condiciones habituales de elaboración, almacenamiento y uso, o en las condiciones de ensayo.

Migración Específica: Cantidad de un componente en particular de interés toxicológico transferido desde los materiales en contacto con los alimentos o bebidas hacia ellos, en las condiciones habituales de elaboración, almacenamiento y uso o en las condiciones equivalentes de ensayo.

1.2 Factores que afectan el proceso de migración:

Son numerosos los factores que influyen sobre el proceso de migración, entre estos se pueden señalar que la migración es directamente proporcional a la concentración del migrante en el material de envase, está influenciada por el tipo y composición del alimento (la migración en alimentos acuosos es normalmente muy baja, mientras que en alimentos grasos es apreciablemente más alta), el tipo y procesamiento del plástico, el tipo de componentes del migrante (polaridad, peso molecular), y las condiciones de tiempo y temperatura para el procesamiento,

distribución y almacenamiento durante la vida útil del alimento envasado. No obstante, se pueden señalar como los más importantes:

La naturaleza del alimento contenido en el empaque plástico: La naturaleza ácida o lipofílica del alimento, por ejemplo, influye en el fenómeno de migración por su capacidad de solubilizar determinados aditivos.

Densidad del plástico, relacionado con su volumen libre y, por tanto, con los espacios donde puede tener lugar la migración, es decir, mientras más denso sea el polímero, menor es la migración.

Concentración del migrante, por debajo de ciertos valores influye sobre el coeficiente de difusión, además a medida que aumenta la concentración de migrantes, mayor serán los niveles de migración.

Tiempo de contacto, a medida que el tiempo de contacto aumenta se favorece el proceso de migración, ya que se incrementa no sólo la disolución del migrante desde la superficie del envase al producto, sino también se ve beneficiado el proceso de difusión en la estructura interna del plástico.

Temperatura, siguiendo la ecuación de Arrhenius afecta al coeficiente de difusión, por lo tanto, se favorece el fenómeno de difusión como el de disolución de los migrantes y aumentan los niveles de migración global.

Naturaleza de la fase de contacto, incide sobre la velocidad de difusión y el coeficiente de partición, sobretudo en alimentos grasos, ya que favorecen la migración por tener un mayor poder de absorción de componentes del material polimérico que otros alimentos.

Espesor del material, influye sobre la velocidad y la cantidad de migrante disponible para migrar, mientras mayor sea el espesor del material polimérico habrá una mayor dificultad del traspaso del migrante hacia el alimento.

Superficie de material en contacto, a mayor superficie de contacto con el alimento o simulante, mayor será el nivel de migración.

Factores mecánicos, la agitación y vibración provocan movimientos de las cadenas poliméricas, lo cual facilita que los posibles migrantes se trasladen de una zona amorfa a otra, aumentando la cantidad migrada.

Diferencias morfológicas y estructurales en la matriz polimérica, originadas durante el proceso de fabricación que se deben, entre otras, a: dirección del flujo durante la extrusión, tensión de orientación durante el moldeado, presencia de

puntos activos, formación de enlaces cruzados en la matriz polimérica, plastificación del polímero, grado de cristalinidad, etc.

1.3 Aspectos legislativos de los materiales plásticos en contacto con alimentos:

Existen legislaciones específicas de materiales en contacto con alimentos, cuyo principal objetivo es garantizar un alto nivel de protección de la salud de los consumidores.

1.3.1 Legislación Europea:

Los ensayos de migración global se encuentran normalizados y recogen todos los factores que afectan la migración. Alrededor de todo el mundo existen diferentes normas para los ensayos de migración global. En Europa existe la norma EN 1186 de 2002 (CEN C., 2002), que en sus quince partes presenta las diferentes variaciones del ensayo según los simulantes y los métodos de contacto. Esta es la norma base para todas las normas latinoamericanas.

1.3.2 Legislación Colombiana:

El Ministerio de Salud y protección social, para la protección de la salud humana y la prevención de prácticas que puedan inducir error a los consumidores expidió la Resolución 683 del 28 de marzo de 2012, en la cual se establece el Reglamento técnico, en el que se señalan los requisitos sanitarios que deben cumplir los materiales, objetos, envases y equipamientos destinados a entrar en contacto con alimentos y bebidas para consumo humano.

Frente a los contaminantes químicos, existen límites establecidos en los Reglamentos técnicos expedidos por el Ministerio de Salud y Protección total, en la Resoluciones 683 de 28 de marzo de 2012, Resolución 4143 del 7 de diciembre de 2012 y Resolución 2014022808 del 22 de julio de 2014.

Según la Resolución 4143 del 7 de diciembre de 2012, título II, Contenido técnico, Capítulo I: Requisitos sanitarios y prohibiciones, define:

Artículo 7: Los límites de migración total o global, el valor no debe ceder de 50 mg de componentes liberados por kg de alimento o simulante.

Artículo 10: Define los límites máximos permitidos de metales pesados, indicando que la suma de las concentraciones de Plomo, Cadmio, Mercurio y Cromo hexavalente no debe superar los 100 mg/kg.

Artículo 11: Define las concentraciones permitidas de sustancias obtenidas a partir de los colorantes y pigmentos utilizados en los envases:

El contenido total de aminas aromáticas sulfonadas expresado como ácido anilinsulfónico no debe exceder 500 mg/kg, en masa del colorante

Los colorantes no contendrán metales y metaloides en cantidades superiores a los siguientes porcentajes:

Tabla 1. Límites máximos permitidos de metales pesados, según Legislación colombiana.

Metales	Límite máximo permitido (% m/m)
Antimonio (soluble en HCl 0.1N)	0.05
Arsénico (soluble en HCl 0.1N)	0.005
Bario (soluble en HCl 0.1N)	0.01
Cadmio (soluble en HCl 0.1N)	0.01
Zinc (soluble en HCl 0.1N)	0.20
Cromo (soluble en HCl 0.1N)	0.10
Mercurio (soluble en HCl 0.1N)	0.005
Plomo (soluble en HCl 0.1N)	0.01
Selenio (soluble en HCl 0.1N)	0.01

1.4 Riesgos para la salud:

1.4.1 Melamina: La melamina es un producto sintético estrechamente relacionado con la industria alimentaria, se emplea como plástico de embalaje, recubrimiento interior de latas y para utensilios de cocina (vajillas, etc.). Se han realizado

estudios con el objetivo de explicar el porqué de los casos de intoxicación por melamina ocurridos desde el 2004 y, sobre todo por el caso de China en el año 2008. Estos estudios intentaban dar una explicación y comprobar si la melamina que forma parte de los plásticos alimentarios puede pasar al alimento de manera accidental, o bien si los alimentos han sido adulterados de manera intencionada.

Sin embargo, tras lo ocurrido en China, se puede decir que el organismo, sobre todo en el caso de los niños, es incapaz de filtrar esta sustancia, que se acumula en los riñones provocando la formación de cálculos renales. De momento, sólo se han registrado cuatro muertes entre los más de 60.000 pequeños intoxicados, aunque es difícil predecir como evolucionaría la insuficiencia renal en cada caso y que secuelas pueden sufrir en su vida adulta.

En el caso de los adultos, la ingesta de melamina no es tan peligrosa, aunque es difícil hacer predicciones a largo plazo, precisamente porque no hay datos que permitan saber cómo reaccionará cada organismo.

La adulteración de alimentos con melamina es una práctica fraudulenta que se realiza para conseguir vender el producto alimentario final a un precio más caro, ya que se trata de vender el nitrógeno de la melamina como si fuera nitrógeno proteico y de esta manera inflar el precio del producto.

1.4.2 Formaldehído: Es un gas incoloro, inflamable a temperatura ambiente. Tiene un olor penetrante característico y en niveles altos puede producir una sensación de ardor en los ojos, nariz y pulmones. Nuestros cuerpos producen cantidades pequeñas de formaldehído en forma natural como parte del metabolismo diario normal; estas pequeñas cantidades no son perjudiciales.

El formaldehído produce irritación de los tejidos, es absorbido rápidamente a través de la nariz y de la parte superior de las vías respiratorias, también se absorbe rápidamente cuando es ingerido, sin embargo, cuando entra en contacto con la piel se absorbe en pequeñas cantidades.

Una vez dentro del cuerpo, el formaldehído es degradado rápidamente, casi todos los tejidos del cuerpo tienen la capacidad de degradar esta sustancia. Beber cantidades altas de este producto puede producir dolor agudo, vómitos, coma y posiblemente la muerte, algunos estudios han demostrado que las personas que están en contacto con formaldehído en forma periódica causa cáncer en la nariz y en la garganta.

1.4.3 Aminas aromáticas: Vías de ingreso: Vía dérmica tanto en forma líquida como en vapor, vía respiratoria y vía digestiva intestinal. El aumento de la temperatura y humedad favorecen el grado de absorción dérmica.

Fuentes de exposición ocupacional: En la producción de tintes y colorantes, herbicidas y fungicidas, farmacéuticos, en la industria del caucho como antioxidante, disolvente en la elaboración de perfumes, barnices y resinas.

Fuentes de exposición no ocupacional: En algunos alimentos, colorantes artificiales y algunos medicamentos.

Efectos adversos: Cáncer en vías urinarias, especialmente en vejiga, induce la formación de metahemoglobina en sangre/riesgo de intoxicación aguda por metahemoglobinemia (cambio en el estado de oxidación del hierro que imposibilita el adecuado transporte de oxígeno, dolor de cabeza, debilidad, malestar, trastornos de sistema nervioso central, dermatitis, anemia, lesiones hepáticas, entre otros.

1.4.4 Metales Pesados:

1.4.4.1 Mercurio: Según la Organización Mundial de la Salud, el mercurio existe en varias formas: elemental (o metálico) e inorgánico (al que la gente se puede ver expuesta en ciertos trabajos); u orgánico (como el metilmercurio, que penetra en el cuerpo humano por vía alimentaria). Estas formas de mercurio difieren por su grado de toxicidad y sus efectos sobre los sistemas nervioso e inmunitario, el aparato digestivo, la piel y los pulmones riñones y ojos.

Todas las personas están expuestas a cierto nivel de mercurio. En la mayoría de los casos se trata de niveles bajos, debidos casi siempre a una exposición crónica (por contacto prolongado, ya sea intermitente o continuo).

La principal consecuencia sanitaria del metilmercurio es la alteración del desarrollo neurológico. Por ello la exposición a esta sustancia durante la etapa fetal puede afectar ulteriormente al pensamiento cognitivo, la memoria, la capacidad de concentración, el lenguaje y las aptitudes motoras y espacio-visuales finas del niño.

1.4.4.2 Plomo: Metal blando, gris azulado, estable y resistente a la corrosión; se puede encontrar en estado elemental o en uno de sus dos estados de oxidación, Pb (+2) y Pb (+4) conformando compuestos inorgánicos (se han utilizado extensamente como pigmentos) y orgánicos (tetraetilo de plomo que se ha

utilizado como aditivo de la gasolina), también se usa para fabricar pigmentos y pinturas en la industria del plástico y una variedad de productos.

Para el ser humano, el plomo es un elemento no esencial y potencialmente nocivo. Cuando este metal alcanza niveles tóxicos provoca la disminución de la fotosíntesis vegetal y el desarrollo de anemia en mamíferos. Los síntomas que puede tener un ser humano por intoxicación con plomo son: Fatiga, dolores de cabeza, dolores óseos, dolores abdominales, trastornos del sueño, dolores musculares, impotencia, trastornos de conducta, y otros. Síntomas avanzados: anemia, cólicos intestinales, náuseas y vómitos, enfermedad renal, impotencia sexual, delirio, esterilidad, daños al feto, hipertensión arterial, estreñimiento agudo, afectación de los nervios, enfermedad ósea, problemas de cáncer.

1.4.4.3 Cadmio: Es un elemento natural de la corteza terrestre; puro, es un metal blando de color plateado, es liberado al suelo, al agua y al aire durante la extracción y refinación de metales no ferrosos, la manufactura y aplicación de abonos de fosfato, la combustión de combustibles fósiles, y la disposición e incineración de basura. El cadmio puede acumularse en organismos acuáticos y en cosechas agrícolas. Los principales usos y aplicaciones del cadmio o sus compuestos son como pigmento en pinturas, esmaltes, plásticos, textiles, vidrios, tintas de impresión, entre otros.

Las personas afectadas por intoxicación por cadmio sufrieron de deformación de los huesos, acompañada de intenso dolor y fracturas, además de proteinuria y glaucoma. Se considera que estas alteraciones, se produjeron favorecidas por factores dietéticos, como deficiencia en vitamina D.

1.4.4.4 Cromo: Elemental no existe como tal en la naturaleza, pero se encuentra combinado con otros elementos, principalmente óxidos y sulfuros, de los que se extrae el metal; se emplea especialmente en metalurgia, para dar un acabado brillante y en aleaciones con hierro o acero, para dar dureza y resistencia a la corrosión.

Su nombre se debe a los distintos colores que presentan sus compuestos. La mayoría de ellos se encuentran en el estado de oxidación hexavalente (Cr VI) o trivalente (Cr III), cada uno de ellos tiene efectos tóxicos, pero el más peligroso es el hexavalente que es 500 a mil veces más tóxico que el trivalente. La toxicidad se presenta usualmente en ambientes industriales, la exposición es fundamentalmente de tipo cutáneo, inhalatorio y digestivo.

Se le ha asociado con el desarrollo de cáncer de pulmón y de las vías respiratorias altas, este metal ocasiona afecciones locales, tales como dermatitis, sensibilización de la piel, es irritante de la piel y mucosas, asimismo afecciones generales como tos, bronquitis crónica, ulceraciones del tabique nasal y piel, dolores respiratorios y de cabeza, hemorragia nasal, dermatitis aguda, entre otros síntomas.

1.4.4.5 Antimonio: Elemento semimetálico tiene cuatro formas alotrópicas. En su forma estable es un metal blanco azulado. El antimonio negro y el amarillo son formas no metálicas inestables. Principalmente se emplea en aleaciones metálicas y algunos de sus compuestos para dar resistencia contra el fuego, en pinturas, cerámicas, esmaltes, vulcanización del caucho y fuegos artificiales.

Muchos plásticos comunes son susceptibles a la degradación por el calor y la luz ultravioleta (UV) y se deben proteger durante la vida de servicio los productos hechos de ellos por la adición de compuestos conocidos como estabilizadores. El antimonio ha sido utilizado desde los años 1950 como estabilizador de calor eficaces para el PVC, especialmente en las formas rígidas del plástico.

El trióxido de antimonio se utiliza como catalizador en la polimerización del PET, que es un plástico usado en las botellas, películas, acondicionamiento de los alimentos, y muchos otros productos.

Los efectos adversos potenciales para la salud ocasionados por la sustancia trióxido de antimonio, por inhalación, los síntomas son tos, dolor de cabeza, náuseas, dolor de garganta, vómitos, por ingestión los síntomas son dolor abdominal, diarrea, dolor de garganta, vómitos, quemazón en el estómago, contacto con los ojos los síntomas son enrojecimiento y dolor, contacto con la piel los síntomas son enrojecimiento, dolor y ampollas.

2. METODOLOGÍAS.

2.1 MÉTODOS PARA DETERMINAR AMINAS AROMÁTICAS

2.1.1 NTC 5088. Determinación de aminas aromáticas primarias libres en colorantes empleados en la fabricación de plásticos para uso en contacto con alimentos y bebidas:

Esta norma tiene por objeto describir un método de ensayo para determinar el contenido de aminas aromáticas primarias libres, solubles en ácido clorhídrico, en colorantes empleados en la fabricación de productos plásticos que van a estar en contacto con alimentos y bebidas.

2.1.1.1 Equipos:

Matraz erlenmeyer de 250 cm³

Agitador magnético

Tubos Nessler de 50 cm³ con tapón

Espectrofotómetro

2.1.1.2 Reactivos:

Solución acuosa de ácido clorhídrico 2M y 0.5M

Solución acuosa de NaNO₂ al 1%

Solución acuosa de Na₂CO₃ al 2%

Solución de sal R (ácido 2-naftol 3,6 sulfónico) al 3% en una solución de NaOH 2M

Anilina grado analítico.

2.1.1.3 Procedimiento:

2.1.1.3.1 Método de extracción: En un erlenmeyer de 250 cm³ se agitan 2.5 g del pigmento a ensayar con 50 cm³ de ácido clorhídrico 2M durante 1 hora, procurando que no quede pigmento sin mojar y dejando reposar posteriormente 1 hora más. Transcurrido este tiempo, se filtra la solución sobre papel y el extracto obtenido se diluye hasta 200 cm³ con agua destilada (solución S).

2.1.1.3.2 Desarrollo del color: En dos tubos Nessler (II y IV) se introducen 10 cm³ de la solución S y se sumergen en un baño de agua-hielo (entre 0°C y 5°C).

Transcurridos 10 minutos se añaden 0.5 cm³ de la solución NaNO₂ se agitan y se dejan reposar otros 10 minutos. A continuación, se vierten en los dos tubos 10 cm³ de la solución Na₂CO₃ se diluye con agua hasta 50 cm³ y se agita; a continuación, sin retirarlo del baño y sólo en uno de ellos (tubo II) se añade 1 cm³ de la solución de la sal R, se agita y se deja reposar a la luz durante 10 minutos, hasta que aparezca una coloración estable.

2.1.1.3.3 Patrón de comparación: Se pesan exactamente 500 mg de anilina, se disuelven con 50 cm³ de ácido clorhídrico 2M y se diluye con agua destilada hasta 1000 cm³. De esta solución se toman 5 cm³ y se diluyen de nuevo a 100 cm³ con solución de ácido clorhídrico 0.5M, la solución obtenida se denominará solución P. En otro tubo nessler (II) de 50 cm³ se vierten 2 cm³ de la solución P que se completan hasta 10 cm³ con la de ácido clorhídrico 0.5M. Se prepara una prueba en blanco en un tubo (I) solamente con el ácido, es decir sin anilina.

En cada tubo se realizan las reacciones de diazotación y copulación del mismo modo que se ha indicado para la muestra (2.2.1.3.2). Es recomendable llevar simultáneamente el proceso de desarrollo del color para muestras y patrones.

2.1.1.3.4 Composición colorimétrica: Teniendo en cuenta el procedimiento descrito se dispondrá de 4 tubos.

Tubo I: El blanco, no debe dar ninguna coloración y si la tuviera deberá anularse el ensayo y cambiar los reactivos.

Tubo II: Patrón que da una coloración (amarillo-naranja) cuya intensidad equivale a un contenido en anilina en el pigmento ensayado del 0.05%

Tubo III: La muestra a la que se ha añadido la solución R, cuya coloración debe compararse con la del patrón.

Tubo IV: La muestra sin la solución R y que tiene el testigo del posible color de fondo procedente de la extracción.

2.1.1.4 Obtención de resultados:

En el caso que el tubo IV no presente ninguna coloración, se comparan únicamente los tubos II y III visualmente o espectrofotométricamente a 510 nm

En el caso de que el tubo IV diera coloración y su intensidad fuese inferior a la del tubo II, deberá efectuarse la lectura espectrofotométrica, restando su absorbancia (tubo IV) a la del tubo II y comparando el valor de absorbancia corregida con la del tubo II.

En el caso que el tubo IV de una coloración más intensa que el patrón II, el método no es aplicable al colorante o pigmento ensayado por ceder este color al extracto ácido.

El pigmento o colorante estará conforme o no con esta norma según que la intensidad de la coloración o la absorbancia corregida del tubo III sea inferior o superior a la correspondiente del tubo II, ambas medidas se realizarán en las mismas condiciones.

El límite de detección es de 10 mg por 100 g de colorante.

2.1.2 DIN 55610. Determinación de Aminas Aromáticas Primarias no sulfonadas.

Los métodos especificados en este procedimiento están diseñados para determinar aminas aromáticas primarias no sulfonadas en pigmentos y en colorantes que son solubles en solventes orgánicos. Los métodos deben ser preferiblemente usados cuando se analicen colorantes para bienes de consumo que puedan entrar en contacto con productos alimenticios.

En los casos en que las aminas presentes sean conocidas, se pueden usar otros métodos.

Principio: Los extractos de ácido clorhídrico se preparan a partir del pigmento o colorante que se examina y el contenido de amina de los extractos se determina mediante cromatografía de capa fina o espectrofotometría.

Muestreo: Se tomará una muestra promedio del colorante como se especifica en la metodología DIN 53242 parte 4.

Determinación de aminas en pigmentos

2.1.2.1 Preparación del extracto: Las soluciones de aminas en disolventes orgánicos son inestables, especialmente cuando están muy diluidas y expuestas a la luz. Todas las soluciones en diclorometano deben por lo tanto estar protegidas contra la luz. Las soluciones estándar se almacenarán en la oscuridad y las soluciones más diluidas se descartarán después del uso.

2.1.2.1.1 Equipos: Se deben usar instrumentos de laboratorio, cristalería y los siguientes materiales:

Agitador mecánico ajustable.

Centrífuga a 3000 min^{-1} .

Inserciones de centrífugas de polipropileno de 100 mL.

Embudo de separación de 250 mL.

Matraz volumétrico de 25 mL, como se especifica en la metodología DIN12664 parte 1 y 2.

Filtro de membrana de tamaño de poro medio de 0,45 micras.

2.1.2.1.2 Reactivos:

Etanol 95% (v/v)

Acido Clorhídrico 1 mol/L

Solución de Hidróxido de Sodio 5 mol/L

Diclorometano

Sulfato de Sodio Anhidro

Anilina 99% (m/m)

2.1.2.1.3 Procedimiento:

Pesar, con una precisión de $\pm 0,01$ g, 1 g de pigmento en un vaso precipitado de 250 mL y humedecer completamente con 3 mL de etanol, agregue 30 mL de ácido clorhídrico y agite durante 30 minutos. Transfiera la suspensión al inserto de centrífuga y lave el residuo en el vaso con un poco de ácido clorhídrico como sea posible. Centrifugar la mezcla durante 5 minutos a 3000 rpm y decantar la solución clara sobrenadante en un embudo de separación. Si las partículas de pigmento flotan en la solución, fíltrela a través de un filtro de membrana para que no entren partículas de pigmento en el embudo de separación.

Enjuague el componente de pigmento en el vaso con 30 mL de ácido clorhídrico. Revuelva la mezcla de nuevo por 30 minutos y centrifúguela como se describe arriba. Decantar la solución clara sobrenadante en el embudo de separación.

Después de la segunda extracción, lave el filtro de membrana con ácido clorhídrico. Neutralice la solución con aproximadamente 12 mL de solución de hidróxido de sodio, luego agregue un exceso de otros 10 mL de solución de hidróxido de sodio, después de enfriar, extraiga la solución una vez con 10 mL de diclorometano y luego dos veces con 5 mL de diclorometano en cada caso. Recoge los extractos en un matraz volumétrico, completa hasta la marca con diclorometano y mezcla bien.

Descarta las soluciones acuosas. Si el contenido de amina es bajo, los extractos obtenidos también pueden secarse con sulfato de sodio o hervirlos cuidadosamente hasta un pequeño volumen y luego completar hasta 5 mL con diclorometano.

2.1.2.2 Determinación:

2.1.2.2.1 Método de Cromatografía de capa fina.

Equipo: Utilice equipo estándar para la cromatografía de capa delgada (DIN 53622).

Soluciones y reactivos:

Dependiendo de las aminas que puedan estar presentes, preferiblemente use fases estacionarias y fases móviles como se especifica en la siguiente tabla 2.

Nota: Los sistemas especificados en la tabla han sido adecuados. La lista, sin embargo, no pretende ser exhaustiva.

Solución stock de amina en diclorometano que contenga 0.1 mg de amina por mL.

Solución madre de amina en diclorometano, se prepara diluyendo 10 mL de solución stock de amina y se afora a 100 mL usando diclorometano, 1 mL de esta solución contiene 0,01 mg de anilina por mL.

2.1.2.2.1.1 Reactivos para el método de diazotización y acoplamiento:

Nitrato de Sodio

Acido clorhídrico: 1: 1, diluir una parte en volumen de ácido clorhídrico (con aproximadamente 1,18 g / mL con una parte en volumen de agua).

Acido H: Solución al 1% de ácido 8-amino-1-naftol-3,6 disulfónico, en 1 mol / L de solución de amoníaco.

Acido R: Solución al 2% de ácido 2-naftol-3,6 disulfónico, en 1 mol / L de solución de carbonato de sodio

Solución 0,4% de dicloruro de N-(1-naftil) dietilenodiamonio en metanol.

2.1.2.2.1.2 Reactivos que se utilizarán para métodos de desarrollo de color directo:

Solución 1% de compuesto diazo, 4-nitroanilina, en agua o en acetona acuosa al 70%.

Solución al 1% de 4-dimetilaminobenzaldehído en ácido acético al 100% al que se ha agregado ácido clorhídrico concentrado al 10%.

Procedimiento: Para comparar la solución de muestra con la solución estándar, aplique el siguiente volumen a la placa de cromatografía de capa fina.

Volumen total de la solución de muestra preparada como en el ítem 2.1.2.1.3 (25 mL/ 5 mL)

Volumen de solución de muestra que se aplica a la placa (20 µL/20 µL).

Volúmenes de soluciones estándar aplicadas a la placa (20, 10, 5 / 20, 10, 5 µL)

Cantidades correspondientes de amina en la muestra (250, 125, 62.5/ 50, 25, 12.5 µg / g).

La fase móvil, la duración del funcionamiento y el tiempo de ejecución se basan en la información que se proporciona en la siguiente tabla.

Tabla 2. Sistema Cromatografía de capa delgada (valores dados como partes/volumen)

Fase Estacionaria ²	Sílica gel ³⁻⁴	Sílica gel ³⁻⁴	Sílica gel ³⁻⁵	Sílica gel ³⁻⁴
Fase móvil	Punto de ebullición 60/80°C 40 Dietileter 40 Acetona10 Tetracloruro de carbón 10	Heptano 65 Acetato de butilo 30 Acido acético 30	Benceno ⁶ 6 Tetracloruro de carbón 3 Acido acético 99% (v/v) 1 Heptano 4 Acetato de etilo 1	Cloroformo ⁶ 90 Acido acético 99% 10
Longitud	15 cm	2 tiempos, 18 cm	2 tiempos, 18 cm	15 cm
Tiempo de ejecución	1.5 horas	2 horas	2.5 horas	1.5 horas

2) El uso de las placas de cromatografía de capa fina con indicadores fluorescentes agregados también permite que las aminas sean detectadas, lo cual no puede ser observado por otros métodos.

3) La información sobre las fuentes de suministro se puede obtener de DIN- Bezugsquellen für normgerechte Erzeugnisse im DIN, Burggrafenstraße 6, D. 1000 Berlin 30.

4) Sílica gel de un diámetro medio de poro de 6 nm, con un indicador fluorescente agregado, el cual tiene una longitud de onda de excitación de 254 nm, y con yeso añadido, el cual tiene un tamaño medio de partícula de 15 µm.

5) Con yeso purificado añadido, el cual tiene un diámetro medio de poro de 6 nm y con un indicador fluorescente agregado, el cual tiene una longitud de onda de excitación de 254 nm.

6) Si benceno u otras sustancias peligrosas son usadas, la Verordnung über gefährliche Arbeitsstoffe (regulación sobre sustancias peligrosas) deberá ser cumplida.

Visualización de separación de sustancias: A continuación se muestran dos métodos para detectar la separación de sustancias, cuando se utilicen otras metodologías se debe especificar en el informe.

Método de diazotación y acoplamiento: Sacar la placa de la cámara y elimine la fase móvil exponiéndola al aire o a una corriente de aire fría. Luego exponerla a gases nitrosos fuertes en una cámara adecuada durante aproximadamente 1 minuto para que su superficie se trate uniformemente.

Para eliminar el exceso de óxido de nitrógeno, sople con aire frío cuidadosamente en la placa durante aproximadamente 2 minutos, luego pulverícelo uniformemente con ácido H amónico y exponga a los vapores de amoníaco para desarrollar la máxima intensidad de color.

Como alternativa al tratamiento con ácido H, la placa también se puede rociar con ácido R o con dicloruro de N-(1-naftil)-etilendiamonio.

Método de desarrollo de color: Sacar la placa de la cámara y elimine la fase móvil exponiéndola al aire o al flujo de aire frío, luego pulverícelo con uno de los reactivos especificados en el ítem 2.1.2.2.1.2.

Nota: Cuando se utilicen estos reactivos, la opacidad de muchas aminas es más débil que en el método de diazotación y acoplamiento. Sin embargo, en algunos casos, estos reactivos producen una coloración que en otras metodologías no se forma.

Evaluación: La evaluación debe de hacerse por medio de comparación visual del color obtenido para la amina presente en la solución estándar o por medio de un espectrofotómetro especial.

2.1.2.2.2 Método Espectrofotométrico

Principio: La amina presente en el extracto preparado como se especifica en el punto 2.1.2.1 se convierte en un compuesto coloreado por diazotización y acoplamiento. La absorbancia de la solución coloreada es medida usando preferiblemente un espectrofotómetro en la absorción máxima de las longitudes de onda que están entre los 350 y 600 nm.

Nota 1. No todas las aminas aromáticas primarias pueden estar diazotizadas y acopladas con la sal R, en caso donde se encuentren los siguientes compuestos: 2-aminofenol, 2-aminofenol-4-metilsulfona, 1,8- diaminonaftaleno y 1,2-fenilendiamina o aminas similares se recomienda utilizar el método descrito por Runce y Trolls.

Si las dificultades aparecen con el método fotométrico, es oportuno realizar un análisis mediante cromatografía en capa fina.

Nota: 3,3-diclorobencidina puede ser determinado por la reacción con cloramina T que lo distingue de muchas otras aminas que no es derivada de la bencidina. El método por cromatografía en capa fina es recomendado para determinar aminas individuales en una mezcla de muchas aminas.

Equipos: Se deben utilizar los instrumentos del laboratorio, cristalería y los siguientes equipos

Espectrofotómetro.

Celdas de espesor óptico de 10 mm a 40 mm

Recipientes de 50 mL, como se especifica en la metodología DIN 12664 partes 1 y 2.

Baño de hielo

Recipiente de fondo redondo de 100 mL

Rotavaporador.

Reactivos:

Solución estándar de amina, se prepara disolviendo 50 mg de anilina (base libre) o de la cantidad correspondiente de amina en 1 L de 1 mol/L ácido clorhídrico y posteriormente agitar la solución.

Solución de nitrito sódico 0.5 mol/L

Solución de carbonato sódico 1 mol/L

Ácido clorhídrico 1 mol/L

Yoduro de potasio/papel almidón

Solución salina R 0.05 mol/L, preparada a partir de 2-naftol-3,6-disulfonato de disodio

Solución de ácido Sulfámico 2.5% en agua.

N,N-dimetilformamida

Solución de hidróxido de sodio 0.1 mol/L

Ácido clorhídrico concentrado 37%

Etol absoluto.

Procedimiento:

Curva de calibración:

Tome 2, 5 y 10 mL de la solución estándar de amina y colóquelos en matraces de 50 mL, estas soluciones se aforan con ácido clorhídrico y se agitan. Enfriar por medio de un baño de hielo, tres recipientes de 50 mL, cada uno debe contener 10 mL de estas soluciones, luego adicionar 0.1 mL de una solución de nitrito de sodio, agitar y dejar en el baño de hielo por 15 minutos aproximadamente. Luego agregue 0.1 mL de nitrito de sodio a cada una de las soluciones y adicione 0.3 mL de la solución de ácido Sulfámico. Analice la ausencia de nitrito después de 5 minutos, usando yoduro de potasio/papel almidón.

Mezcle 6 mL de solución de carbonato de sodio y 1 mL de sal de R en un recipiente pequeño. Agregue gota a gota la solución diazo el cual ha sido examinado por la ausencia de nitrito mientras se agita. Volviendo a la solución producida en el recipiente de 50 mL. Lave el recipiente pequeño con una mezcla

de 70:30 de N.N-dimetilformamida y agua y luego agregue esta solución al recipiente de 50 mL. Aforar con N.N-dimetilformamida/agua y mezcle bien la solución.

Después de 10 minutos, medir la absorbancia utilizando las celdas de 10 mm o 40 mm con longitudes de onda desde 350 nm hasta 600 nm, preferiblemente usando un espectrofotómetro. Agregar la solución que ha sido preparada de la misma manera pero sin adicionar solución de nitrito de sodio a la celda de referencia.

Nota: Dado que el color de algunas soluciones se desvanece, la medición debe hacerse en un rango de 30 minutos

Graficar la absorbancia en función de la masa de la amina (μg) en 50 mL de la solución y dar una longitud del camino de las celdas usadas.

Preparación de la solución de ensayo: La solución de ensayo debe ser preparada por cualquiera de los siguientes pasos:

- A. Lave el extracto de diclorometano obtenido en el punto 2.1.2.1 con 50 mL de la solución de hidróxido de sodio, posteriormente lave dos veces usando 25 mL de agua en cada caso. Descarte el lavado de agua. Extraer la fase con 25 mL de diclorometano y dos veces con 10 mL de ácido clorhídrico. Recolecte la muestra en un recipiente volumétrico de 50 mL, aforar con ácido clorhídrico y agitar.
- B. Lave el extracto de diclorometano obtenido en el punto 2.1.2.1 como en el ítem anterior, con una solución de hidróxido de sodio y agua, transfiera en un recipiente redondo de 100 mL, después agregue unas gotas de ácido clorhídrico y 2 mL de etanol, evapore hasta que este seco, este proceso se hace en un rotavaporador. Donde sea posible, este proceso se debe llevar a cabo a temperatura ambiente, si la temperatura excede los 30°C , disuelva la solución en 50 mL de ácido clorhídrico y agite la mezcla.

Nota: El método descrito anteriormente puede preferirse como método general ya que cubre aminas débilmente básicas como: 2,4-dicloroanilina, 3-nitro-4-aminotolueno y 2-cloro-4-nitroanilina, que no se transfieren cuantitativamente desde la fase de diclorometano a la fase de ácido clorhídrico por agitación.

Medición espectrofotométrica:

Tome 10 mL de la solución de prueba preparada como se especifica en la preparación de solución de ensayo a o b, diazotizar como se indica en la sección

principio del ítem 2.1.2.2.2, y juntar con la sal R, después de 10 minutos, mida la absorbancia como se especifica en el mismo ítem. Llene la celda de referencia con una solución preparada como se especifica en el punto preparación de solución de ensayo, a o b, pero sin añadir la solución de nitrito de sodio.

Determinación de aminas en colorantes solubles en disolventes.

2.1.2.3 Preparación del extracto:

2.1.2.3.1 Equipos: Instrumentos normales de laboratorio y cristalería, especialmente embudos de separación de 250 mL y matraz volumétrico de 25 mL.

2.1.2.3.2 Reactivos:

Solvente: Tolueno, éter dietílico, diclorometano

Acido clorhídrico 1 mol/L

Solución de hidróxido de sodio 5 mol/L

Diclorometano

Sulfato de sodio anhidro

2.1.2.3.3 Procedimiento:

Pese 1 g ± 0.01 g de colorante en un beaker de 250 mL y disuélvalo en 80 mL de solvente mientras lo agita y si es necesario caliéntelo. Después de dejarlo enfriar, transfiera la solución a un embudo de separación. Lave el beaker con 20 mL de solvente y también transfiera el solvente al embudo.

Extraer la solución tres veces usando 25 mL de acido clorhídrico en cada caso. Recoger los extractos en un segundo embudo de separación y neutralice con aproximadamente 15 mL de solución de hidróxido de sodio. Luego, agregue un exceso de 20 mL de solución de hidróxido de sodio.

Después de dejar enfriar, extraer la solución con 10 mL y por segunda vez con 5 mL de diclorometano en cada caso. Recoger los extractos en un matraz volumétrico, aforar con diclorometano y mezclar.

Descartar la solución acuosa, si el contenido de aminas es bajo, los extractos recolectados también deberán ser secados con sulfato de sodio, hervidos cuidadosamente a un volumen pequeño y luego aforar a 5 mL con diclorometano.

2.1.2.4 Determinación: Determinar el contenido de amina por uno de los métodos especificados en el ítem 2.1.2.2.

2.1.2.5 Reporte. El reporte debe incluir la siguiente información:

Tipo y descripción del producto a ensayar

La metodología utilizada.

Método utilizado para determinar el contenido de aminas.

Resultados del ensayo

Cualquier desviación presentada en la metodología.

Fecha de ensayo

2.2 MÉTODOS PARA DETERMINAR METALES PESADOS.

2.2.1 NTC 5092: Métodos de ensayo para determinar metales pesados en colorantes empleados en la fabricación de productos plásticos para uso en contacto con los alimentos:

La muestra se somete a una extracción en medio ácido con agitación a temperatura ambiente. La solución resultante se utiliza directamente para la determinación de estos metales por espectrofotometría de absorción atómica.

2.2.1.1 Determinación de Plomo:

2.2.1.1.1 Reactivos: Se deben utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico ($d = 1.19 \text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm^3 de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm^3 .

Ácido Nítrico ($d = 1.4 \text{ g/cm}^3$)

Acido Nítrico al 1% (v/v). Se disuelve 1 cm^3 de ácido nítrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm^3 .

Plomo, solución patrón correspondiente a 1 g de plomo por litro. Se deben usar patrones en solución disponible comercialmente o una solución preparada de la siguiente forma: Se pesan 0.1598 g de nitrato de plomo con precisión de $\pm 0.1 \text{ mg}$ y se disuelven hasta 100 cm^3 en ácido nítrico al 1% (v/v) enrasando a 100 cm^3 . 1 cm^3 de esta solución contiene 1 mg ($1000 \text{ } \mu\text{g}$) de plomo

Plomo solución patrón correspondiente a 0.1 g de plomo por litro. Se colocan 10 cm^3 de la solución patrón de plomo obtenida anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm^3 . Se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm^3 de esta solución contiene $100 \text{ } \mu\text{g}$ de plomo.

2.2.1.1.2 Equipos:

Dos balanzas con precisión de $\pm 0.1 \text{ mg}$ y $\pm 0.1 \text{ g}$ respectivamente

Vaso de precipitados de 250 cm^3 de capacidad.

Matraz aforado de 100 cm^3 de capacidad

Papel filtro de 15 cm de diámetro

Agitador magnético

Núcleos (barras imantadas cubiertas de polietileno)

Pipetas de doble aforo de 1, 2, 3, 4, 5, 10 cm³ de capacidad.

Erlenmeyer de 250 cm³ de capacidad

Embudos de 8 cm de diámetro

Lámpara de cátodo hueco

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado por aire-acetileno.

2.2.1.1.3 Procedimiento:

2.2.1.1.3.1 Extracción: Se pesan 10 g \pm 0.1 g del colorante en un vaso de precipitado de 250 cm³ de capacidad y se añaden 150 cm³ de ácido clorhídrico 0.1N, se introduce en el vaso de precipitados un núcleo y se agita durante 15 minutos en el agitador magnético, comprobando que el pigmento sea mojado por el ácido. Transcurrido este tiempo, se filtra en un erlenmeyer. En este filtrado se determinan los metales.

2.2.1.1.3.2 Preparación de la gráfica de calibración: En una serie de matraces aforados de 100 cm³ se colocan los volúmenes de la solución patrón de plomo (0.1 g de Plomo por Litro), indicados en la tabla 3. Se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N y se agita.

Tabla 3. Volúmenes de la solución patrón de plomo:

Volumen de la solución patrón de Pb (0.1 g de plomo por litro) (cm ³)	Concentración correspondiente de Pb $\mu\text{g/g} = \text{ppm}$
1	
2	2
3	3

Volumen de la solución patrón de Pb (0.1 g de plomo por litro) (cm ³)	Concentración correspondiente de Pb αg/g =ppm
4	4
5	5

2.2.1.1.3.3 Condiciones del espectrofotómetro: Se enciende el equipo con tiempo suficiente para asegurar la estabilización de la energía de la lámpara de cátodo hueco, se ajusta la longitud de onda 283.3 nm y se coloca la rejilla de acuerdo con las características del equipo. Luego se conecta el corrector de fondo de deuterio.

Se ajusta la presión del aire y del acetileno de acuerdo con las características del aspirador-quemador, para obtener una llama oxidante, clara y no luminosa (azul). Se ajusta el flujo de acuerdo con las características del equipo.

Se aspira la serie de patrones (indicados en el numeral 2.2.1.1.3.2) en la llama sucesivamente y se mide la absorbancia de cada solución. Se debe asegurar que la tasa de aspiración sea constante.

2.2.1.1.3.4 Blanco: Se aspira también en la llama a la vez que los patrones, un blanco formado por ácido clorhídrico 0.1N.

2.2.1.1.3.5 Curva de calibración: Se dibuja una gráfica poniendo la concentración de patrones de plomo en μg en las abscisas y los valores correspondientes de absorbancia, una vez corregidos con la absorbancia del blanco en las ordenadas. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.1.3.6 Determinación: Se realiza una medida duplicada en el espectrofotómetro, en las condiciones especificadas en el numeral 2.2.1.1.3.3 de la solución de ensayo (extracto).

Si la absorbancia es mayor que la del mayor patrón utilizado en la curva de calibración, se diluye la muestra con agua destilada de la siguiente manera: Se toman n cm³ de la solución en un matraz aforado de 100 cm³, de manera que la concentración de plomo entre dentro del rango cubierto por las soluciones patrón. Se enrasa con agua y se repite la medida.

2.2.1.1.4 Expresión de resultados: Al valor de absorbancia obtenido por la solución de ensayo se le resta el valor de absorbancia obtenido por el blanco. El valor de absorbancia resultante se interpola en la gráfica de calibración, obteniéndose así el valor en concentración de la solución ensayo. La concentración en el colorante se obtiene mediante la fórmula siguiente:

$$C \text{ } \mu\text{g/g} = f * (C_s * V) / m$$

En donde:

C_s : Es la concentración obtenida por la gráfica de calibración de la solución ensayo, expresada en $\mu\text{g/g}$

V : Volumen de ácido clorhídrico utilizado en la extracción, expresada en cm^3

m : Masa de colorante pesado.

f : Factor de dilución si se requiere, que corresponde a $f = 100/n$, donde n es el volumen en mL tomado de la solución ensayo.

C ($\mu\text{g/g}$): Es la concentración en mg/kg o partes por millón

2.2.1.2 Determinación de Arsénico:

2.2.1.2.1 Reactivos: Se debe utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico ($d = 1.19 \text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm^3 de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm^3 .

Acido clorhídrico 32% (v/v). Se disuelven 32 cm^3 de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm^3

Acido clorhídrico 1.5% (v/v). Se disuelven 15 cm^3 de ácido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 1000 cm^3

Borohidruro sódico

Hidróxido sódico

Hidróxido sódico 1%. Se pesa 1 g de hidróxido sódico y se disuelve con agua destilada hasta un volumen de 100 cm^3

Borohidruro sódico 3%. Se pesan 3 g de borohidruro sódico y se disuelven hasta 100 cm³ con hidróxido sódico al 1%

Tritiplex III

Tritiplex III 1%. Se pesa 1g de tritiplex III y se disuelve en agua destilada diluyendo hasta 100 cm³ con el mismo líquido.

Hidróxido potásico

Hidróxido potásico 20%. Se pesan 20 g de hidróxido potásico y se disuelve en agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Acido Sulfúrico (d= 1.84/cm³)

Acido Sulfurico 20% (v/v). Se diluyen 20 cm³ de ácido sulfúrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Acido sulfúrico 1% (v/v): Se diluyen 1 cm³ de acido sulfúrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³.

Arsénico, solución patrón correspondiente a 1 g de arsénico por litro. Se deben usar patrones disponibles comercialmente o una solución preparada de la siguiente manera. Se pesan 0.1320 g de trióxido de arsénico con precisión de ± 0.1 mg, se disuelven en 2.5 cm³ de hidróxido potásico 20%, se neutraliza con ácido sulfúrico 20% y se diluye hasta 100 cm³ con ácido sulfúrico 1%. 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 μ m) de arsénico.

Arsénico, solución patrón correspondiente a 0.1 g de arsénico por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de arsénico obtenida anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluyen hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 μ g de arsénico.

Arsénico solución patrón correspondiente a 1 mg de arsénico por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de arsénico preparado anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 1 μ g de arsénico.

Arsénico, solución patrón correspondiente a 0.01 mg de arsénico por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de arsénico preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 10 μ g de arsénico.

2.2.1.2.2 Equipos:

Dos balanzas con precisión de ± 0.1 mg y ± 0.1 g respectivamente

Vaso de precipitados de 250 cm³ de capacidad.

Matraz aforado de 100 cm³ de capacidad

Papel filtro de 15 cm de diámetro

Agitador magnético

Núcleos (barras imantadas cubiertas de polietileno)

Pipetas de doble aforo de 1, 2, 3, 4, 5, 10 cm³ de capacidad.

Erlenmeyer de 250 cm³ de capacidad

Embudos de 8 cm de diámetro

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con sistema generador de hidruros

Lámpara de descarga sin electrodos

Fuente de alimentación para lámparas de descarga sin electrodos

Registrador gráfico

2.2.1.2.3 Procedimiento:

2.2.1.2.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.2.3.2 Condiciones del espectrofotómetro: Se conecta la fuente de alimentación de las lámparas de descarga sin electrodos, con el tiempo suficiente para que se estabilice la energía de la lámpara.

Se conecta el espectrofotómetro y colocando la rejilla de acuerdo con las condiciones del equipo, se ajusta la longitud de onda a 193.7 nm

Se conecta el generador de hidruros, colocando la temperatura de la celda a 900°C y se espera hasta que se alcance dicha temperatura. Se ajustan las condiciones del generador de hidruros según las especificaciones de cada equipo.

Se ajusta el flujo de argón de acuerdo con las características del equipo. Se enciende el registrador.

2.2.1.2.3.3 Curva de Calibración: Se construye una curva de calibración midiendo en el registrador las alturas de pico correspondientes a las absorbancias de los patrones de arsénico de 10, 20, y 50 ng, descontando la absorbancia obtenida por el blanco.

Los patrones se preparan añadiendo en el matraz de reacción las cantidades de arsénico y reactivos especificadas en la tabla 4

Tabla 4. Cantidades de Arsénico y reactivos para la preparación de los patrones

Cantidades abs. As (ng)	Tritiplex (cm ³)	Ácido clorhídrico 32% (cm ³)	Solución Patrón (0.1 mg de As por litro) (cm ³)
10	10	3	1
20	10	3	2
50	10	3	5

El blanco se prepara añadiendo al matraz de reacción los mismos reactivos que a los patrones, más 3 cm³ de ácido clorhídrico 0.1N

Se conectan los matraces de reacción sucesivamente en el generador de hidruros, observando que el paso del borohidruro sódico 3% no se obstruye. Se lavan los matraces antes y después de cada uso con ácido clorhídrico 1.5%.

Se dibuja la gráfica poniendo en absisas los nanogramos de arsénico y en ordenadas las alturas de pico correspondientes, una vez descontado el blanco. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.2.3.4 Determinación: Se realiza una medida duplicada en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en el 2.2.1.2.3.2 de la solución de ensayo, añadiendo al matraz de reacción 3 cm³ de la solución ensayo (extracto) además de las mismas cantidades de reactivos añadidas a los patrones.

Si la absorbancia es mayor que la del mayor patrón utilizado en la curva de calibración se disminuye la cantidad de solución de ensayo (extracto) tomada hasta obtener una absorbancia dentro del rango cubierto por la gráfica de calibración.

2.2.1.2.4 Expresión de resultados:

Al valor de absorbancia obtenido por la solución de ensayo (extracto) se le resta el valor de absorbancia obtenida para el blanco. El valor de absorbancia resultante se interpola en la gráfica de calibración, obteniéndose así los ng de arsénico contenidos en los cm³ de la solución ensayo, introducidos en el matraz de reacción. La concentración en el colorante se obtiene mediante la siguiente expresión:

$$C \text{ } \mu\text{g/g} = (X_{\text{ng}} * V) / (n * m)$$

En donde:

X_{ng}: Es el peso de arsénico obtenido en los n cm³ de la solución de ensayo, expresado en nanogramos.

V: Volumen de ácido clorhídrico utilizado en la extracción, expresada en cm³

m: Masa de colorante pesado.

n: Volumen añadido al matraz de reacción, expresado en cm³.

C (μg/g): Es la concentración en mg/kg o partes por millón

2.2.1.3 Determinación de mercurio:

2.2.1.3.1 Reactivos: Se debe utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico (d= 1.19 g/cm³)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm³ de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm³.

Perclorato de magnesio

Cloruro estannoso

Cloruro estannoso al 20%. Se pesan 20 g de cloruro estannoso, se disuelven en 20 cm³ de ácido clorhídrico y se enrasa hasta 100 cm³ con agua destilada.

Acido clorhídrico (1+1) (v/v). Se diluyen 50 cm³ de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Mercurio, solución patrón correspondiente a 1 de mercurio por litro. Se deben usar patrones disponibles comercialmente o una solución preparada de la siguiente manera. Se pesan 0.1080 g de óxido de mercurio con precisión de ± 0.1 mg y se disuelve en un volumen mínimo de ácido clorhídrico (1+1) se diluye hasta 100 cm³ con agua destilada, 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 µm) de mercurio.

Mercurio, solución patrón correspondiente a 0.1 g de mercurio por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de mercurio, preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluyen hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 µg de mercurio.

Mercurio, solución patrón correspondiente a 1 mg de mercurio por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de mercurio preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 1 µg de mercurio.

2.2.1.3.2 Equipos:

Dos balanzas con precisión de ± 0.1 mg y ± 0.1 g respectivamente

Vaso de precipitados de 250 cm³ de capacidad.

Matraz aforado de 100 cm³ de capacidad

Papel filtro de 15 cm de diámetro

Agitador magnético

Núcleos (barras imantadas cubiertas de polietileno)

Pipetas de doble aforo de 1, 2, 3, 4, 5, 10 cm³ de capacidad.

Erlenmeyer de 250 cm³ de capacidad

Embudos de 8 cm de diámetro

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con sistema de vapor frío para el mercurio

Lámpara de cátodo hueco

Registrador gráfico

2.2.1.3.3 Procedimiento:

2.2.1.3.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.3.3.2 Preparación de la gráfica de calibración: En una serie de matraces aforador de 100 cm³ se colocan los volúmenes de la solución patrón de mercurio indicados en la tabla 5, se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N y se agita.

Tabla 5. Volúmenes de la solución patrón de Mercurio:

Volumen de la solución patrón de Hg (1 mg de mercurio por litro) (cm ³)	Concentración de mercurio (μ g/g =ppm)
1	0.01
2	0.02
5	0.05

2.2.1.3.3.3 Condiciones del espectrofotómetro: Se conecta al espectrofotómetro el sistema de vapor frío, usando como desecante el perclorato de magnesio.

Se conecta el espectrofotómetro con tiempo suficiente para asegurar la estabilización de la energía de la lámpara de cátodo hueco, se ajusta la longitud de onda a 254 nm y se coloca la rejilla de acuerdo con las especificaciones del equipo.

Se ajusta la presión y el flujo de aire para conseguir la absorbancia óptima. Se enciende el registrador.

2.2.1.3.3.4 Curva de Calibración: Se construye una curva de calibración midiendo en el registrador las alturas de pico correspondientes a las absorbancias de los patrones de mercurio 0.01, 0.02 y 0.05 μ g/g, descartando la absorbancia obtenida por el blanco.

Se colocan sucesivamente 10 cm³ de cada patrón en el matraz de reacción, se conecta al sistema de vapor frío y se añaden 5 cm³ de cloruro estannoso, se conecta el aire y se lee el pico de absorbancia producido en el registrador.

El blanco se prepara colocando en el matraz de reacción 10 cm³ de ácido clorhídrico 0.1N y añadiendo posteriormente 5 cm³ de cloruro estannoso.

Se dibuja la gráfica poniendo en absisas la concentración de mercurio en $\mu\text{g/g}$ y en ordenadas las alturas de pico correspondientes, una vez descontado el blanco. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.3.3.5 Determinación: Se realiza una medida duplicada en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en el 2.2.1.3.3.3 de la solución de ensayo (extracto), poniendo en el matraz 10 cm^3 de dicha solución y añadiendo posteriormente 5 cm^3 de cloruro estannoso.

Si la absorbancia es mayor que la del mayor patrón utilizado se disminuye la cantidad de solución de ensayo (extracto) tomada hasta obtener una absorbancia dentro del rango cubierto por las soluciones patrón.

2.2.1.3.4 Expresión de resultados:

Al valor de la absorbancia obtenido por la solución de ensayo (extracto) se le resta el valor de absorbancia obtenida para el blanco. El valor de absorbancia resultante se interpola en la gráfica de calibración, obteniéndose así la concentración de mercurio en los 10 cm^3 de las soluciones ensayo, introducidos en el matraz de reacción. La concentración en el colorante se obtiene por la siguiente expresión:

$$C\text{ }\mu\text{g/g} = X\text{ (}\mu\text{g/g)} * V) / m$$

En donde:

X ($\mu\text{g/g}$): Es la concentración de mercurio obtenidas en los $n\text{ cm}^3$ de la solución de ensayo en $\mu\text{g/g}$

V: Volumen de ácido clorhídrico utilizado en la extracción.

m: Masa de colorante pesado.

C ($\mu\text{g/g}$): Es la concentración en mg/kg o partes por millón

2.2.1.4 Determinación de Bario:

2.2.1.4.1 Reactivos: Se han utilizado solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico ($d = 1.19\text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm^3 de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm^3 .

Bario, solución patrón correspondiente a 1 g de bario por litro. Se deben usar patrones en solución disponibles comercialmente o una solución preparada de la siguiente forma. Se pesan 0.1779 g de cloruro de bario con precisión de ± 0.1 mg y se disuelven hasta 100 cm³ con agua destilada, 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 μ m) de bario.

Bario, solución patrón correspondiente a 0.1 g de bario por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de bario, preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 μ g de bario.

Cloruro potásico

Cloruro potásico al 1% en potasio. Se pesan 1.9 g de cloruro potásico, se disuelve en agua destilada y se enrasa hasta 100 cm³ en agua destilada.

2.2.1.4.2 Equipos:

Dos balanzas con precisión de ± 0.1 mg y ± 0.1 g respectivamente

Vaso de precipitados de 250 cm³ de capacidad.

Matraz aforado de 100 cm³ de capacidad

Papel filtro de 15 cm de diámetro

Agitador magnético

Núcleos (barras imantadas cubiertas de polietileno)

Pipetas de doble aforo de 1, 2, 3, 4, 10 cm³ de capacidad.

Erlenmeyer de 250 cm³ de capacidad

Embudos de 8 cm de diámetro

Lámpara de cátodo hueco

Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con un mechero alimentado por óxido nitroso-acetileno.

2.2.1.4.3 Procedimiento:

2.2.1.4.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.4.3.2 Preparación de la gráfica de calibración: En una serie de matraces aforados de 100 cm³ se colocan los volúmenes de la solución patrón de bario indicados en la tabla 6 y 10 cm³ de la solución de cloruro potásico al 1%, se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N y se agita.

Tabla 6. Volúmenes de la solución patrón de Bario:

Volúmenes de la solución patrón de Ba (1 g de Bario por litro) (cm ³)	Concentración correspondiente a Ba (µg/g =ppm)
2	2
3	3
5	5
10	10

2.2.1.4.3.3 Condiciones del espectrofotómetro: Las condiciones serán indicadas en el numeral 2.2.1.1.3.3, teniendo en cuenta que la longitud de onda se ajustará a 227 nm y que la presión del óxido-nitroso acetileno se debe ajustar para obtener una llama reductora (roja).

El blanco se aspira también en la llama, a la vez que los patrones, un blanco. El blanco se forma como a continuación se indica. Se añade en un matraz aforado de 100 cm³, 10 cm³ de solución de cloruro potásico al 1% y se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N.

2.2.1.4.3.4 Curva de Calibración: Se dibuja una gráfica colocando la concentración de los patrones de bario en µg/g, en las abscisas y los valores correspondientes de absorbancias, una vez corregidos con la absorbancia del blanco, en las ordenadas. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.4.3.5 Determinación: Se toma una alícuota de 50 cm³ de la solución especificada (extracto) y se añaden 5 cm³ de la solución de cloruro potásico al 1%. Se realiza la determinación como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.6 en esta solución, teniendo en cuenta las condiciones especificadas en espectrofotómetro.

2.2.1.4.4 Expresión de resultados: Es aplicable el numeral 2.2.1.1.4 añadiendo el factor de dilución debido a la adición de cloruro potásico

2.2.1.5 Determinación de Cromo:

2.2.1.5.1 Reactivos: Se deben utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico ($d = 1.19 \text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm^3 de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 100 cm^3 .

Cromo, solución patrón correspondiente a 1 g de cromo por litro. Se deben usar patrones en solución disponible comercialmente o una solución preparada de la siguiente forma. Se pesan 0.3735 g de cromato potásico con precisión de $\pm 0.1 \text{ mg}$ y se disuelven hasta 100 cm^3 con agua destilada, 1 cm^3 de esta solución contiene 1 mg ($1000 \mu\text{m}$) de cromo.

Cromo, solución patrón correspondiente a 0.1 g de cromo por litro. Se toman 10 cm^3 de la solución patrón de cromo, preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm^3 y se diluye hasta el enrase con agua destilada. 1 cm^3 de esta solución contiene $100 \mu\text{g}$ de cromo.

2.2.1.5.2 Equipos: Se deben utilizar los equipos relacionados en el numeral 2.2.1.1.2

2.2.1.5.3 Procedimiento:

2.2.1.5.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.5.3.2 Preparación de la gráfica de calibración: En una serie de matraces aforados de 100 cm^3 se colocan los volúmenes de la solución patrón de cromo indicados en la tabla 7 se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N y se agita.

Tabla 7. Volúmenes de la solución patrón de Cromo:

Volumen de la solución patrón de Cr (0.1 g de Cr por litro) (cm^3)	Concentración correspondiente a Cr ($\mu\text{g/g} = \text{ppm}$)
2	2
3	3
4	4

Volumen de la solución patrón de Cr (0.1 g de Cr por litro) (cm ³)	Concentración correspondiente a Cr (µg/g =ppm)
5	5

2.2.1.5.3.3 Condiciones del espectrofotómetro: Las condiciones serán indicadas en el numeral 2.2.1.1.3.3, teniendo en cuenta que la longitud de onda se debe ajustar a 358 nm y que la presión del aire y del acetileno se debe ajustar para obtener una llama reductora (amarilla).

El blanco es aplicable el procedimiento del blanco de plomo.

2.2.1.5.3.4 Curva de Calibración: Se dibuja una gráfica poniendo la concentración de los patrones de cromo en µg/g, en las abscisas y los valores correspondientes de absorbancia, una vez corregidos con la absorbancia del blanco, en las ordenadas. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.5.3.5 Determinación: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.6, teniendo en cuenta las condiciones especificadas en el espectrofotómetro

2.2.1.5.4 Expresión de resultados: Es aplicable el numeral 2.2.1.1.4

2.2.1.6 Determinación de Cadmio:

2.2.1.6.1 Reactivos: Se deben de utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico (d= 1.19 g/cm³)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm³ de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm³.

Acido clorhídrico (1+1) (v/v). Se diluyen 50 cm³ de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Acido clorhídrico (1%) (v/v). Se diluye 1 cm³ de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Cadmio, solución patrón correspondiente a 1 g de cadmio por litro. Se usan patrones en solución disponibles comercialmente o una solución preparada de la siguiente forma. Se pesan 0.1000 g de cadmio metal con precisión de ± 0.1 mg y se disuelven en un volumen mínimo de ácido clorhídrico (1+1). Se diluye hasta

100 cm³ con ácido clorhídrico al 1%, 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 µg) de cadmio.

Cadmio, solución patrón correspondiente a 0.1 g de cadmio por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de cadmio, preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 µg de cadmio.

Cadmio, solución patrón correspondiente a 0.01 g de cadmio por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de cadmio, preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 10 µg de cadmio.

2.2.1.6.2 Equipos: Se deben utilizar los equipos relacionados en el numeral 2.2.1.1.2

2.2.1.6.3 Procedimiento:

2.2.1.6.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.6.3.2 Preparación de la gráfica de calibración: En una serie de matraces aforados de 100 cm³ se colocan los volúmenes de la solución patrón de cadmio indicados en la tabla 8 se enrasa con ácido clorhídrico 0.1N y se agita.

Tabla 8. Volúmenes de la solución patrón de Cadmio:

Volumen de la solución patrón de Cd (0.01 g de Cd por litro) (cm ³)	Concentración correspondiente de Cd (µg/g =ppm)
2	0.2
5	0.5
10	1

2.2.1.6.3.3 Condiciones del espectrofotómetro: Las condiciones serán indicadas en el numeral 2.2.1.1.3.3, teniendo en cuenta que la longitud de onda se ajustará a 228.8 nm.

El blanco es aplicable el procedimiento para realizar el blanco de la muestra de plomo.

2.2.1.6.3.4 Curva de Calibración: Se dibuja una gráfica poniendo la concentración de los patrones de cadmio en $\mu\text{g/g}$, en las absisas y los valores correspondientes de absorbancias, una vez corregidos con la absorbancia del blanco, en las ordenadas. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.6.3.5 Determinación: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.6, teniendo en cuenta las condiciones especificadas en el espectrofotómetro.

2.2.1.6.4 Expresión de resultados: Es aplicable el numeral 2.2.1.1.4

2.2.1.7 Determinación de Selenio:

2.2.1.7.1 Reactivos: Se debe utilizar solamente reactivos de grado analítico indicados en los numerales siguientes y agua destilada.

Acido clorhídrico ($d = 1.19 \text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm^3 de ácido clorhídrico en agua destilada, hasta un volumen de 1000 cm^3 .

Acido clorhídrico 1.5% (v/v). Se disuelven 15 cm^3 de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 1000 cm^3

Borohidruro sódico

Hidróxido sódico

Hidróxido sódico 1%. Se pesa 1 g de hidróxido sódico y se disuelve con agua destilada hasta un volumen de 100 cm^3

Borohidruro sódico 3%. Se pesan 3 g de borohidruro sódico y se disuelven hasta 100 cm^3 con hidróxido sódico al 1%

Acido nítrico ($d = 1.4 \text{ g/cm}^3$)

Acido clorhídrico al 10% (v/v). Se diluyen 10 cm^3 de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm^3

Selenio, solución patrón correspondiente a 1 g de selenio por litro. Se deben usar patrones en solución disponibles comercialmente o una solución preparada de la siguiente forma. Se pesan 0.1000 g de selenio metal con precisión de $\pm 0.1 \text{ mg}$, se disuelven en un volumen mínimo de ácido nítrico, se evapora a sequedad, se añaden 2 cm^3 de agua destilada y se evapora a sequedad. Se repite el

procedimiento 2 o 3 veces, se disuelve en ácido clorhídrico al 10% hasta un volumen de 100 cm³, 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 µg) de selenio.

Selenio, solución patrón correspondiente a 0.1 g de selenio por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de selenio preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluyen hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 µg de selenio.

Selenio solución patrón correspondiente a 1 mg de selenio por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de selenio preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 1 µg de selenio.

Selenio, solución patrón correspondiente a 0.01 mg de selenio por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de selenio preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 10 µg de selenio.

2.2.1.7.2 Equipos: Se deben utilizar los equipos mencionados en el metal arsénico

2.2.1.7.3 Procedimiento:

2.2.1.7.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.7.3.2 Condiciones del espectrofotómetro: Las condiciones serán las indicadas en el numeral 2.2.1.2.3.2 teniendo en cuenta que la longitud de onda se ajustará a 196 nm.

2.2.1.7.3.3 Curva de Calibración: Se construye una curva de calibración midiendo en el registrador las alturas correspondientes a los picos de las absorbancias de los patrones de selenio de 10, 20, y 50 ng, descontando la absorbancia obtenida para el blanco.

El blanco se prepara poniendo en el matraz de reacción 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5% más 3 cm³ de ácido clorhídrico 0.1N.

Los patrones se preparan poniendo en el matraz de reacción 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5%, además de 1, 2 y 5 cm³ respectivamente de la solución patrón de selenio, que corresponden a 10, 20 y 50 ng de selenio

Se conectan los matraces de reacción sucesivamente en el generador de hidruros, observando que el paso del borohidruro al 3% no se obstruye. Se lavan los matraces antes y después de cada uso con ácido clorhídrico 1.5%.

Se dibuja la gráfica poniendo en absisas los nanogramos de selenio y en ordenadas las alturas de pico correspondientes, una vez descontado el blanco. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.7.3.4 Determinación: Se realiza una medida duplicada en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en el 2.2.1.7.3.2 de la solución de ensayo (extracto), añadiendo al matraz de reacción 3 cm³ de dicha solución, además de 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5%.

Si la absorbancia es mayor que la del mayor patrón utilizado en la curva de calibración se disminuye la cantidad de la solución de ensayo tomada hasta obtener una absorbancia dentro del rango cubierto por la gráfica de calibración.

2.2.1.7.4 Expresión de resultados: Es aplicable la fórmula descrita en expresión de resultados de arsénico

2.2.1.8 Determinación de Antimonio:

2.2.1.8.1 Reactivos: Se deben utilizar solamente reactivos de grado analítico y agua destilada.

Acido clorhídrico (d= 1.19 g/cm³)

Acido clorhídrico 0.1N. Se diluyen 8.3 cm³ de ácido clorhídrico con agua destilada, hasta un volumen final de 1000 cm³.

Acido clorhídrico 1.5% (v/v). Se disuelven 15 cm³ de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 1000 cm³

Borohidruro sódico

Hidróxido sódico

Hidróxido sódico, se pesa 1 g de hidróxido sódico y se disuelve con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Borohidruro sódico 3%. Se pesan 3 g de borohidruro sódico y se disuelven hasta 100 cm³ con hidróxido sódico al 1%

Acido clorhídrico 5% (v/v). Se disuelven 5 cm³ de acido clorhídrico con agua destilada hasta un volumen de 100 cm³

Antimonio, solución patrón correspondiente a 1 g de antimonio por litro. Se recomienda usar patrones en solución disponibles comercialmente en caso de no ser posible se prepara la solución de la siguiente forma. Se pesan 0.2743 g de antimonio tartrato potásico y se disuelven en ácido clorhídrico 5% hasta un volumen de 100 cm³, 1 cm³ de esta solución contiene 1 mg (1000 µm) de antimonio.

Antimonio, solución patrón correspondiente a 0.1 g de antimonio por litro. Se toman 10 cm³ de la solución patrón de antimonio preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluyen hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 100 µg de antimonio.

Antimonio, solución patrón correspondiente a 1 mg de antimonio por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de antimonio preparada anteriormente en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 1 µg de antimonio.

Antimonio, solución patrón correspondiente a 0.01 mg de antimonio por litro. Se toma 1 cm³ de la solución patrón de antimonio, preparada anteriormente, en un matraz aforado de 100 cm³ y se diluye hasta el enrase con ácido clorhídrico 0.1N. 1 cm³ de esta solución contiene 10 ng de antimonio.

2.2.1.8.2 Equipos: Se deben utilizar los equipos mencionados en el metal arsénico

2.2.1.8.3 Procedimiento:

2.2.1.8.3.1 Extracción: Se realiza como se indica en el numeral 2.2.1.1.3.1

2.2.1.8.3.2 Condiciones del espectrofotómetro: Las condiciones serán las indicadas en el numeral 2.2.1.2.3.2 teniendo en cuenta que la longitud de onda se ajustará a 217.6 nm y la temperatura de la celda será de 850°C.

2.2.1.8.3.3 Curva de Calibración: Se construye una curva de calibración midiendo en el registrador las alturas de pico correspondientes a las absorbancias de los patrones de antimonio de 10, 20, y 50 ng, descontando la absorbancia obtenida para el blanco.

El blanco se prepara poniendo en el matraz de reacción 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5% además de 3 cm³ de ácido clorhídrico 0.1N.

Los patrones se preparan poniendo en el matraz de reacción 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5%, además de 1, 2 y 5 cm³ respectivamente de la solución de antimonio (0.01 mg de antimonio por litro), que corresponden a 10, 20 y 50 ng de antimonio

Se conectan los matraces de reacción sucesivamente en el generador de hidruros, observando que el paso del borohidruro al 3% no se obstruya.

Se lavan los matraces antes y después de cada uso con ácido clorhídrico 1.5%.

Se dibuja la gráfica poniendo en absisas los nanogramos de antimonio y en ordenadas las alturas de pico correspondientes, una vez descontado el blanco. La gráfica debe ser una línea recta.

2.2.1.8.3.4 Determinación: Se realiza una medida duplicada en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en el 2.2.1.8.3.2 de la solución de ensayo (extracto), añadiendo al matraz de reacción 3 cm³ de la misma, mas 10 cm³ de ácido clorhídrico 1.5%.

Si la absorbancia es mayor que la del mayor patrón utilizado en la curva de calibración se disminuye la cantidad de la solución de ensayo tomada hasta obtener una absorbancia dentro del rango cubierto por la gráfica de calibración.

2.2.1.8.4 Expresión de resultados: Es aplicable la fórmula descrita en expresión de resultados de arsénico.

2.2.2 COVENIN 3293:1997. Pigmentos utilizados en materiales y artículos destinados a estar en contacto con alimentos. Método de ensayo para la determinación de metales pesados.

Esta norma venezolana establece los requisitos y procedimientos analíticos básicos para determinar el contenido de Cadmio, Cromo, Mercurio, Arsénico y Plomo extraíbles, e pigmentos utilizados en materiales y artículos plásticos destinados a estar en contacto con alimentos

Requisitos:

El contenido de metales pesados en los pigmentos utilizados en la elaboración de materiales y artículos destinados a estar en contacto con los alimentos no debe exceder los límites establecidos en la tabla 9

Tabla 9. Límite máximo de metales pesados en pigmentos.

Elemento	%	mg/Kg (ppm)
Arsénico	0.01	100
Cadmio	0.005	50
Cromo VI	0.01	100
Mercurio	0.005	50
Plomo	0.01	100

Método de ensayo

Principio: Este ensayo consiste en extraer y determinar el contenido de metales pesados solubles, presentes en una muestra de pigmentos secos.

2.2.2.1 Aparatos:

Espectrofotómetro de absorción atómica

Espectrofotómetro UV-Vis

Lámpara catódica de cada uno de los metales pesados a analizar

Balanza analítica

Agitador mecánico

Material usual de laboratorio

2.2.2.2 Reactivos:

Acido clorhídrico p.a

Solución de acido clorhídrico 0.1N

Soluciones patrones de los metales pesados a determinar

Borohidruro de sodio p.a

Etanol grado analítico

Difenilcarbazida p.a

Solución de Difenilcarbazida 0.25% (0.25 g en una mezcla de 50 mL de agua y 50 mL de acetona)

Acido fosfórico 85% p.a

Solución de acido sulfúrico 2N

Solución de hidróxido de sodio 2N

Materiales a ensayar: Pigmentos secos en general

2.2.2.3 Procedimiento:

Se pesan 5 g de muestra pigmentaria directamente en un recipiente de vidrio, se agrega etanol hasta obtener total humectación, se agregan 75 mL de ácido clorhídrico 0.1N, previamente ajustado a 25°C, se agita la muestra hasta obtener total homogeneidad, luego se continua la agitación cuidadosamente por 15 minutos y se lleva cuantitativamente a 100 mL con ácido clorhídrico 0.1N. Se filtra a través de papel de 2.5 µm de porosidad, recolectando la solución filtrada, la cual no debe presentar ningún tipo de coloración y/o turbidez.

Nota: Si la solución presenta coloración y/o turbidez no procede la aplicación de esta norma.

Se determina el contenido de metales pesados en la solución mediante la siguiente metodología según sea el caso:

Arsénico: Para la determinación de arsénico debe usarse la espectrofotometría de absorción atómica, con corrección de ruido de fondo. La lectura se realiza a 193.7 nm

Cadmio: Para la determinación de cadmio debe usarse a espectrofotometría de absorción atómica de llama de aire/acetileno con corrección de ruido de fondo. La lectura se realiza a 228.8 nm.

Cromo hexavalente: Para la determinación de cromo hexavalente debe usarse la técnica de espectrofotometría de UV-Vis con formación de un complejo coloreado entre el cromo hexavalente y una disolución de Difenilcarbazida en medio ácido. La lectura se realiza a 540 nm

Mercurio: Para la determinación de mercurio debe usarse la espectrofotometría de absorción atómica, con generación de vapor en frío y corrección de ruido de fondo. La lectura se realiza a 253.7 nm.

Plomo: Para la determinación de plomo debe usarse a espectrofotometría de absorción atómica de llama de aire/acetileno y corrección de ruido de fondo. La lectura se realiza a 217 nm.

Nota: Adicionalmente a los procedimientos descritos anteriormente, puede usarse cualquier otra técnica analítica de mayor precisión, como por ejemplo: Generación de hidruros o plasma inducido acoplado (IPC) para la determinación de los metales pesados.

2.2.2.3.1 Curvas de patrones:

Solución patrón de arsénico: 1 mg/mL (1000 ppm)

Solución intermedia 0.1 mg/mL (100 ppm). Se miden 10 mL de la solución patrón, se lleva a un matraz aforado de 100 mL, previamente identificado y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando muy bien la solución. Esta solución contiene 100 ppm de arsénico.

Soluciones de trabajo: Se miden 0.0 mL, 5 mL, 10 mL y 15 mL de la solución intermedia y se colocan cada uno de estos volúmenes en matraces aforados de 100 mL previamente identificados y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando luego las soluciones. Estas soluciones contienen 0, 5, 10 y 15 ppm de arsénico respectivamente.

Solución patrón de Cadmio: 1 mg/mL (1000 ppm)

Solución intermedia 0.1 mg/mL (100 ppm). Se miden 10 mL de la solución patrón, se lleva a un matraz aforado de 100 mL, previamente identificado y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando muy bien la solución. Esta solución contiene 100 ppm de cadmio.

Soluciones de trabajo: Se miden 0.0 mL, 5 mL, 10 mL y 15 mL de la solución intermedia y se colocan en matraces aforados de 200 mL previamente identificados y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando luego las soluciones, Estas soluciones contienen 0, 2.5, 5 y 7.5 ppm de cadmio respectivamente.

Solución patrón de Mercurio: 1 mg/mL (1000 ppm)

Solución intermedia 0.1 mg/mL (100 ppm). Se miden 10 mL de la solución patrón, se lleva a un matraz aforado de 100 mL, previamente identificado y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando muy bien la solución. Esta solución contiene 100 ppm de mercurio.

Soluciones de trabajo: Se miden 0.0 mL, 5 mL, 10 mL y 15 mL de la solución intermedia y se colocan en matraces aforados de 200 mL previamente identificados y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando luego las soluciones, Estas soluciones contienen 0, 2.5, 5 y 7.5 ppm de mercurio respectivamente.

Solución patrón de Plomo: 1 mg/mL (1000 ppm)

Solución intermedia 0.1 mg/mL (100 ppm). Se miden 10 mL de la solución patrón, se lleva a un matraz aforado de 100 mL, previamente identificado y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando muy bien la solución. Esta solución contiene 100 ppm de plomo.

Soluciones de trabajo: Se miden 0.0 mL, 5 mL, 10 mL y 15 mL de la solución intermedia y se colocan en matraces aforados de 100 mL previamente identificados y se completa el aforo con agua destilada, homogenizando luego las soluciones. Estas soluciones contienen 0, 5, 10 y 15 ppm de plomo respectivamente.

Solución patrón de Cromo hexavalente: 0.1 mg/mL (100 ppm)

Solución intermedia 1 µg/mL (1 ppm). Se miden 10 mL de la solución patrón, se lleva a un matraz aforado de 1000 mL, previamente identificado con ácido clorhídrico 0.1N. Esta solución contiene 1 ppm de cromo hexavalente.

Soluciones de trabajo: Se miden 0.0 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL y 20 mL de la solución intermedia, se ajusta a pH 7 con Hidróxido de sodio 2N; se adiciona 2 mL de solución de Difenilcarbazida, de 1 a 2 mL de ácido ortofosfórico y 5 mL de ácido sulfúrico 2N, se transfieren cuantitativamente a matraces aforados de 50 mL con agua destilada. Estas soluciones contienen 0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 ppm de cromo hexavalente respectivamente

2.2.2.4 Expresión de resultados:

$$CM = [CL * 100 \text{ mL} / PM] * FD$$

Donde:

CM: Concentración del metal pesado en la muestra, expresada en ppm.

CL: Lectura de la concentración del metal pesado en el ensayo, expresada en ppm

FD: Factor de dilución

PM: Peso de la muestra en gramos.

2.3 DETERMINACIÓN DE MELAMINA Y FORMALDEHÍDO.

2.3.1 Desarrollo de la metodología para la determinación de la migración específica de melamina y formaldehído en envases y materiales en contacto con alimentos:

El objetivo es el desarrollo de la metodología para evaluar la migración específica de melamina y formaldehído en simulantes de alimentos y realizar las pruebas de estabilidad de los monómeros a los tratamientos térmicos que se utilizan con mayor frecuencia en preservación de alimentos. Los resultados de estabilidad térmica de los monómeros en estudio en los distintos simulantes permiten establecer criterios para aplicar o no el tratamiento térmico correspondiente, seleccionando así las condiciones de ensayo en las cuales se minimicen las pérdidas de los monómeros.

2.3.1.1 Metodología/ Descripción experimental:

Los simulantes de alimentos usados son:

Agua destilada (A)

Solución acuosa de ácido acético al 3% m/v (B)

Solución acuosa de etanol al 15% v/v (C)

Aceite de girasol y simulante de agua potable, solución acuosa de 1ppm de cloro (D)

3.3.1.1.1 Cuantificación de melamina: Se determina el contenido de melamina en todos los simulantes por HPLC, con detector UV visible de arreglo de diodos columna de fase reversa con supresión iónica, fase móvil acetonitrilo: Buffer pH 6.5 a 230nm. El método se evaluó tanto en columna de octadecil-silano (ODS) como en columna amino (NH₂). Se realiza una única curva de calibración para todos los simulantes acuosos. Para determinar melamina en simulante D se realiza una extracción con isopropanol y agua a 70°C. La curva de calibración para simulante D se prepara en aceite de girasol. Se trabaja en el rango 2 a 60 mg/Kg de melamina en simulante.

2.3.1.1.2 Cuantificación de formaldehído: Se cuantifica el contenido de formaldehído en todos los simulantes por colorimetría con ácido cromotrófico a 60°C, utilizando un espectrofotómetro UV-visible. Se realiza una curva de calibración para cada simulante. Para la cuantificación en simulante D se realiza una extracción con agua.

2.3.1.2 Estudios de recuperación: Se preparan soluciones de 300ppm de melamina y 150ppm de formaldehído por separado en simulantes A, B, C y D (10 veces el límite de migración específica) y se sometieron a condiciones de hermeticidad a los siguientes tratamientos térmicos: 10 días a 40°C (conservación a temperatura ambiente por tiempo prolongado) y 30 minutos a 121°C seguido de 10 días a 40°C (esterilización y conservación a temperatura ambiente por tiempo prolongado).

Se analizan 6 muestras con resinas melamina-formaldehído en su formulación, determinando la migración específica de melamina y formaldehído en barnices para latas, recubrimiento para piletas y tanques de agua potable, utensilios de cocina y aditivos para cemento, seleccionando los simulantes y el tratamiento térmico de acuerdo a su uso.

Se analizan además 10 muestras con resinas epoxi-fenólicas de barnices para latas de gaseosa y cervezas, conservas, determinando la migración específica de formaldehído seleccionando los simulantes de acuerdo a su uso y el tratamiento térmico de acuerdo a los porcentajes de recuperación (%R) obtenidos y estudios previos.

2.3.1.3 Resultados:

Para la determinación de melamina se obtuvo un límite de cuantificación de 1 ppm en simulantes acuosos y 3 ppm para simulante graso. Se observó simetría de picos tanto para la columna NH₂ como para la columna octadecil-silano (ODS). Para la determinación de formaldehído se obtuvo un límite de cuantificación de 3 ppm para todos los simulantes. En ambos métodos se observó linealidad en el rango de trabajo.

La tabla 10 muestra los resultados del porcentaje de recuperación (%R) con referencia a la concentración teórica de la solución, para melamina y formaldehído, en función del tratamiento térmico aplicado, para los distintos simulantes empleados.

Tabla 10. Estudio del porcentaje de recuperación para melamina y formaldehído.

Tipo de tratamiento	Simulante	%R melamina	%R formaldehído
10 días a 40°C	A	79	100
	B	75	---
	C	85	33
	D	36	100
30 minutos a 121°C seguido de 10 días a 40°C	A	78	37
	B	76	38
	C	85	35
	D	37	43

Los resultados de migración específica de formaldehído y melamina obtenidos para las muestras ensayadas con resina epoxi-fenólicas y melamina-formaldehído en la formulación, fueron menores al límite de cuantificación en todos los casos.

2.3.1.4 Conclusiones: De los resultados obtenidos se observa que el método es aplicable en el rango de trabajo, de acuerdo a los límites de migración específica establecidos. En la determinación de melamina se puede trabajar tanto con la columna NH₂ como con la columna octadecil-silano (ODS), obteniendo resultados equivalentes, de acuerdo a lo observado en los cromatogramas obtenidos para los distintos puntos de la curva de calibración. Del análisis de los %R obtenidos para los distintos estimulantes, para melamina no se observan cambios entre las dos condiciones térmicas utilizadas, obteniéndose sólo valores bajos para el simulante D. Para melamina corresponde aplicar la condición de esterilización sin excepciones.

Para formaldehído se observa una disminución importante en el %R en simulantes A y D, cuando se aplica la condición de 121°C, por lo que se confirma que para la migración específica de formaldehído en simulante D corresponde realizar el ensayo sin aplicar las condiciones de esterilización.

2.3.2 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con ionización química a presión atmosférica y diodos para la determinación de melamina y sus derivados en alimentos.

En esta metodología se evalúa la aplicación de la técnica Cromatografía líquida de intercambio iónico con dos sistemas de detección, Ionización química a presión reducida-Espectrometría de masas y detector de diodos, para la determinación rápida de Melamina y compuestos relacionados estructuralmente, incluyendo Amelina, Amelida y Acido cianúrico en alimentos. En ambos procedimientos, se utilizó Cromatografía líquida de intercambio iónico y elución isocrática. La extracción de las muestras se llevó a cabo por homogenización con la mezcla acetonitrilo:agua:dietilamina. Se ha validado la linealidad, límite de detección y límite de cuantificación, selectividad, exactitud y precisión de los métodos. Se demostró la especificidad para Cromatografía líquida- espectrometría de masas por las características de retención y los espectros, mientras que en el caso de Cromatografía líquida- detector de diodos se demostró su validez para Melamina y Amelina, considerando las características de retención y los espectros UV. Las recuperaciones obtenidas para muestras fortificadas fueron satisfactorias para todos los analitos con Cromatografía líquida- espectrometría de masas. El procedimiento propuesto, Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas, se aplicó con éxito al análisis de diferentes alimentos infantiles, incluyendo fórmulas infantiles y cereales de desayuno, así como a muestras de harina de arroz, almidón de patata y bebidas de soja y de coco.

2.3.2.1 Procedimiento experimental:

2.3.2.2 Reactivos:

Se utilizaron acetonitrilo y metanol (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain) de calidad LC. El agua destilada se purificó usando un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

La disolución de acetato amónico 10 mM de pH 6,5 se preparó a partir del producto comercial (Panreac, Barcelona, Spain). Otros reactivos fueron hidróxido sódico, ácido fosfórico, fosfato sódico, etanol y dietilamina (Panreac).

Las disoluciones patrón de los estándares se prepararon a partir de los productos comerciales. Melamina (Sigma-Aldrich) y derivados de melamina como: Amelida (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Germany), se prepararon disolviendo 10 mg en 25 mL de una mezcla metanol:agua 1:1. Amelina (Fluka, Buchs, Switzerland)

se preparó disolviendo 10 mg en 25 mL de una mezcla metanol:agua 1:1 conteniendo hidróxido sódico 0,05 M y sonicando durante 5 min, Acido cianúrico (Sigma-Aldrich) se preparó disolviendo 10 mg en 50 mL de una mezcla etanol:agua conteniendo hidróxido sódico 0,05 M y sonicando durante 5 min. Todas las disoluciones se mantuvieron en botellas oscuras a 4 °C, excepto Amelida que se almacenó a -18 °C. Las disoluciones estándar de trabajo se prepararon por dilución con disolución reguladora acetato/acético el mismo día de su uso.

2.3.2.3 Instrumentación.

Sistema de Cromatografía líquida con una velocidad de flujo de 0,5 mL min⁻¹. Los disolventes se desgasificaron usando un sistema de membrana en línea. La columna se mantuvo en un compartimento termostataado a temperatura ambiente. El detector de diodos debe operar a dos longitudes de onda de 200 nm para Melamina y Amelina, y 220 nm para Amelida y Acido cianúrico. La columna analítica usada para la técnica de intercambio catiónico para mejorar la resolución (15 cm x 4 mm, tamaño de partícula 5 µm). La inyección (40 µL) se llevó a cabo usando un automuestreador.

El sistema de Cromatografía líquida se acopló a un espectrómetro de masas de trampa de iones equipado con una interfase de ionización química a presión reducida, operando en ambos modos de ionización positivo y negativo y en modo de medida de iones seleccionados. Los parámetros instrumentales fueron: temperatura de secado, 350 °C; temperatura ionización química a presión reducida, 400 °C; flujo del gas de secado, 6 L min⁻¹ y presión del gas nebulizador, 60 psi.

Las disoluciones se almacenaron en viales de vidrio ámbar de 10 mL. Se utilizaron una centrífuga y un baño de ultrasonidos. Para filtrar las muestras, se usaron filtros de nailon de 25 mm de diámetro (0,45 µm).

2.3.2.4 Muestras.

Las muestras de diferentes tipos de alimentos infantiles fueron suministradas por fabricantes locales: tres tipos de fórmulas infantiles (inicio, seguimiento y prebiótica) y cereales de desayuno (multicereales con miel). Otras muestras de harina de arroz, harina de arroz glutinoso, almidón de patata, bebida de soja y bebida de coco se obtuvieron de diferentes proveedores.

Los estudios de recuperación se llevaron a cabo usando cuatro muestras diferentes (fórmula infantil, cereales de desayuno, harina de arroz y bebida de soja) fortificadas con los cuatro analitos, cuando se usó el método Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas, a niveles de concentración entre 210 ng g^{-1} y $2,4 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$. Las muestras se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante al menos media hora antes de comenzar el procedimiento de extracción.

2.3.2.5 Procedimiento analítico

Se pesó una cantidad de muestra de 0,5 g en un tubo de vidrio y se añadieron 5 mL de una mezcla acetónitrilo:agua:dietilamina 5:4:1. La suspensión se homogeneizó y se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. Entonces, se recogió la disolución sobrenadante y se filtró a través de un filtro cromatográfico de $0,45 \text{ } \mu\text{m}$. Se inyectaron alícuotas de $40 \text{ } \mu\text{L}$ en el cromatógrafo con el automuestreador.

La fase móvil usada en condiciones isocráticas fue acetato amónico 10 mM (pH 6,5) a $0,5 \text{ mL min}^{-1}$.

Se llevó a cabo detección UV-vis en el rango 190-450 nm y el detector de diodos se utilizó a longitudes de onda de 200 nm para Melamina y Amelina y 220 nm para Amelida y Acido cianúrico.

La respuesta de Espectrometría de masas óptima se obtuvo con ionización química a presión reducida en modo positivo para Melamina y Amelina, y en modo negativo para Amelida y Acido cianúrico. Los análisis se llevaron a cabo por duplicado.

2.3.2.5.1 Optimización de la separación cromatográfica:

La melamina es una molécula básica y polar con un pKa de 5.6 y un valor de log P de -1.37. Debido a su elevada polaridad, los compuestos ionizados son retenidos en menor extensión que las especies neutras en fase reversa. Las especies ionizadas también interactúan con los silanoles expuestos y activados, lo que afecta a la norma de los picos y la reproducibilidad.

La separación se inició utilizando Cromatografía líquida fase reversa, usando varias columnas de C_{18} y diferentes disoluciones reguladoras como fases móviles. Sin embargo, debido a su naturaleza polar, algunos de los analitos no resultaron retenidos por las columnas en ninguna de las condiciones y, en consecuencia, se descartó la técnica de fase reversa.

Para aumentar la retención de melamina y sus derivados, se ensayó la cromatografía de pares iónicos. La naturaleza iónica de los compuestos facilitó las interacciones fuertes con reactivos de pares iónicos aniónicos a pH apropiados, aumentando así la retención y la resolución. Sin embargo, cuando se usó la técnica Cromatografía líquida-espectrometría de masas, la resolución de la columna en disoluciones reguladoras volátiles es crítica y, por tanto, se descartó el uso de Cromatografía de pares iónicos.

Se ensayó la técnica de intercambio catiónico usando una columna SCX (15 cm x 4 mm, 5µm).

Se estudió el efecto del pH de la fase móvil en el rango 3-7 sobre los tiempos de retención y las formas de los picos usando disoluciones reguladoras fosfato 50 mM a 0,5 mL min⁻¹. El ácido cianúrico no se retuvo en la columna bajo ninguna condición, mientras que la retención del resto de los compuestos aumentó a valores de pH más bajos, especialmente para Amelina y melamina.

Se ensayaron fases móviles de mayor volatilidad, en este caso, formiato y acetato. Cuando se trabajó con disolución reguladora de formiato 50 mM, los compuestos fueron retenidos por la columna.

Se obtuvo la mejor resolución usando acetato amónico 10 mM (pH 6.5) a 0,5 mL min⁻¹, siendo el orden de elución: 1, ácido cianúrico (t_R =2,1 min); 2, Amelida (t_R =2,2 min); 3, Amelina (t_R =3,2 min) y 4, Melamina (t_R =5,8 min).

El método usado, Cromatografía líquida-detector de diodos, fue menos selectivo y requirió validación intensiva para asegurar que no producían interferencias por absorción a las bajas longitudes de onda usadas para la detección, a 200/220 nm. Por otra parte, el ácido cianúrico tiene grupos cromóforos mucho más débiles que el resto de los compuestos y, por tanto, un límite de detección más alto. Además las bandas correspondientes a ácido cianúrico y Amelida eluyeron muy cercanas al tiempo muerto y no pudieron ser resueltas.

2.3.2.5.2 Optimización de las condiciones de ionización química a presión reducida-espectrometría de masas

Se llevó a cabo una comparación de los métodos de ionización: Espectrometría de masas, ionización química a presión reducida y Ionización por electrospray y se seleccionó el procedimiento ionización química a presión reducida, usando la sonda de nebulización caliente porque fue más sensible que Ionización por electrospray para varios de estos compuestos polares.

La respuesta de Espectrometría de masas óptima se obtuvo con ionización química a presión reducida, en modo positivo para Melamina y Amelina, y en modo negativo para Amelida y Acido cianúrico. Hay que tener en cuenta que Amelina se puede analizar tanto en modo positivo como en modo negativo. Así, los iones $[M+H]^+$ se usaron como iones target para Melamina y Amelina, mientras que los iones $[M-H]^-$ se usaron para Amelida y Acido cianúrico (Tabla 11).

El uso de las dos polaridades opuestas significa que es necesario cambiar la polaridad durante cada cromatograma (Cromatografía líquida-Espectrometría de masas), o llevar a cabo dos cromatogramas diferentes, uno en cada modo. Los análisis se llevaron a cabo en dos cromatogramas para mejorar la sensibilidad.

La Tabla 11 resume también los tiempos de retención, las bandas UV y los datos de ionización química a presión reducida-espectrometría de masas. Todos los compuestos se identificaron por interpretación de sus espectros de masas obtenidos por la metodología ionización química a presión reducida-espectrometría de masas y sus espectros de absorción en la región UV.

Tabla 11. Condiciones de Cromatografía líquida-detector de diodos y Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas.

Compuesto	t_R (minutos)	Longitud de onda	Modo de ionización	Ión target (m/z)
Acido cianúrico	2.1	220	Negativo	128
Amelida	2.2	220	Negativo	127
Amelina	3.2	200	Positivo	128
Melamina	5.8	200	Positivo	127

La supresión de iones producida por los iones de la disolución reguladora de la fase móvil presentes a concentraciones elevadas es de esperar que no interfieran con la ionización de los analitos que son retenidos con el método Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas.

2.3.2.6 Procedimiento y extracción de la muestra

Ya que los alimentos infantiles y los alimentos funcionales son muestras biológicas altamente complejas, fue necesario utilizar alguna forma de preparación de la muestra para simplificar la matriz y facilitar la interpretación no ambigua de la señal. También hay que tomar precauciones adicionales para asegurar la integridad de la muestra a lo largo del proceso analítico. Esto es particularmente crítico para la determinación de ácido cianúrico, que puede precipitar fácilmente.

La eficiencia de la extracción se evaluó por medio de estudios de recuperación usando la técnica de adiciones estándar.

Por tanto, la muestra se trató con ácidos para eliminar las proteínas. Así, la extracción se llevó a cabo añadiendo Ácido tricloroacético al 3% m/v y lavando el precipitado con agua después de la centrifugación. La precipitación de proteínas con ácido, sin neutralización, tiene la ventaja de ser un proceso de preparación de muestra rápido y eficaz; aunque se producen pérdidas de ácido cianúrico y melamina.

Sin embargo, se obtuvieron buenos resultados cuando se usaron juntos un disolvente orgánico y medio alcalino. Así, se consiguió la extracción óptima usando una mezcla acetonitrilo:agua:dietilamina en la proporción 5:4:1 como se propone en el método de la Agencia de Drogas y Alimentos. La mezcla se centrifugó a 6000 rpm durante 10 min y se filtró usando un filtro de nailon de 0,45 μm .

2.3.2.7 Validación de los métodos analíticos

Se validaron los métodos con respecto a su linealidad, Límites de detección y Límites de cuantificación, selectividad, precisión y exactitud.

Las gráficas de calibrado se obtuvieron por análisis de regresión lineal de las áreas de pico versus concentración de analito (ng mL^{-1}) usando seis niveles de concentración. Los parámetros de validación, coeficientes de regresión y rango de linealidad para cada compuesto usando Cromatografía líquida-espectrometría de masas y calibrando por el procedimiento de estándar externo se muestran en la Tabla 12. Los valores de los coeficientes de correlación fueron mayores que 0,99, lo que implica una linealidad excelente para todo el rango estudiado. Los límites de detección y cuantificación se calcularon en base a tres y diez veces, respectivamente, la desviación estándar de la ordenada en el origen de las gráficas de calibrado y los valores también se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Datos de validación del método Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas

	Melamina	Amelina	Amelida	Ácido cianúrico
Intervalo lineal (ng mL ⁻¹)	10-200 (125-2000)	10-200 (125-2000)	10-200 (150-2000)	100-2000 (1250-20000)
Coeficiente de regresión	0.983	0.977	0.978	0.997
Límite de detección (ng mL ⁻¹)	2.2 (32)	2.7 (35)	3.0 (43)	13 (180)
Límite de cuantificación (ng mL ⁻¹)	7.3 (106)	9.0 (116)	10 (143)	43 (600)
Precisión (n=10), Desviación estándar relativa (%)	9.7	7.6	6.8	5.3
Los valores entre paréntesis corresponden a ng g ⁻¹				

Se calculó la precisión de los métodos por análisis repetidos, calculando la desviación estándar relativa para diez inyecciones idénticas de la misma muestra fortificada a 1 µg g⁻¹. Los valores se muestran en la Tabla 12 e indican que la precisión del método Cromatografía líquida-espectrometría de masas fue satisfactoria para análisis de control.

2.3.2.8 Estudio del efecto matriz

Se estudió el efecto matriz para los diferentes tipos de muestras analizadas con objeto de evaluar la supresión de la señal producida por la coelución de compuestos de la matriz de la muestra que afecten a la ionización de los analitos. Esto se puede atribuir en la detección por Espectrometría de masas a desprotonación, a la presencia de componentes no volátiles y, en matrices complejas, a cantidades grandes de especies competitivas por los iones disponibles.

Se compararon las pendientes de las gráficas de calibrado de estándares acuosos y de adiciones estándar para las diferentes matrices, obtenidas representando concentración (a cinco niveles) frente a área de pico y realizando un análisis de regresión lineal. La aplicación de un estudio estadístico concluyó que había diferencias significativas para las pendientes al nivel de confianza del 95 %, confirmando que la calibración deberá llevarse a cabo por el método de adiciones estándar para compensar el efecto matriz. La Tabla 12 muestra los datos obtenidos para la linealidad, límites de detección y cuantificación aplicando el método de adiciones estándar a una fórmula infantil de inicio (datos entre paréntesis). Se llevó a cabo un estudio similar usando Cromatografía líquida-detector de diodos para Melamina y Amelina y también se detectó efecto matriz, proponiendo también el método de adiciones estándar cuando Melamina y Amelina se cuantifican por Cromatografía líquida-detector de diodos.

Se evaluó la selectividad del método Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas, analizando seis muestras blanco diferentes con objeto de determinar la posible interferencia de sustancias extrañas. No se observaron picos de impurezas a los tiempos de retención correspondientes a Melamina y sus derivados cuando se analizaron las matrices blanco y extractos de las muestras fortificadas. En el caso del método Cromatografía líquida-detector de diodos, se llevó a cabo un estudio similar para comprobar la selectividad para Melamina y Amelina.

Para estudiar la exactitud del método Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de masas, se llevó a cabo un estudio de recuperación fortificando cuatro muestras (fórmula infantil, cereales de desayuno, harina de arroz y bebida de soja) a dos niveles de concentración correspondientes a aproximadamente dos y cuatro veces los límites de cuantificación. Las recuperaciones de melamina y derivados a partir de muestras fortificadas variaron entre 80 y 103%, con un valor de recuperación media \pm SD (n=64) de 91 \pm 5. En el caso de Cromatografía líquida-detector de diodos, las mismas muestras fueron fortificadas con Melamina y Amelina a dos niveles de concentración en el rango 260-600 ng g⁻¹, y se obtuvo una recuperación media \pm SD (n=32) de 89 \pm 7.

2.3.2.9 Análisis de alimentos

Se analizaron diferentes alimentos infantiles, correspondientes a tres tipos de fórmulas infantiles (inicio, seguimiento y prebiótica de seguimiento) y un cereal de desayuno (multicereales con miel), usando el procedimiento propuesto Cromatografía líquida-ionización química a presión reducida-espectrometría de

masas. Otras muestras también analizadas fueron harina de arroz, harina de arroz glutinoso, almidón de patata, bebida de soja y bebida de coco. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado. No se detectaron los analitos Melamina, Amelina, Amelida ni ácido cianúrico en ninguna de las muestras por encima de los límites de detección.

Los perfiles cromatográficos demostraron la ausencia de interferencias. Los picos cromatográficos para muestras fortificadas se identificaron en primer lugar comparando los datos de retención obtenidos para los estándares, las muestras y las diferentes muestras fortificadas bajo condiciones idénticas. Finalmente, se confirmó la identificación usando los espectros por Espectrometría de masas.

CONCLUSIONES.

- En la revisión bibliográfica realizada se encontró que los alimentos sufren alteraciones que pueden modificar sus niveles de nutrición, estas alteraciones se presentan como consecuencia del contacto directo con los envases, recipientes o cualquier tipo de material utilizado durante el proceso de elaboración, conservación y distribución de dichos productos, por este motivo, se hace necesario realizar diversos controles a los envases con el fin de determinar las posibles fuentes de contaminación en el alimento y evitar enfermedades en el ser humano a causa del consumo de estos productos. Debido a estos inconvenientes, se desarrollaron metodologías para determinar las posibles interacciones que suceden entre los envases y los alimentos, y a partir, de estas investigaciones, se establecieron regulaciones y normas para el control de calidad de los empaques. Las metodologías encontradas para determinar migraciones específicas de los compuestos: Aminas aromáticas primarias y metales pesados, corresponden a normas oficiales de la unión Europea y de nuestro país, en cambio, las metodologías para determinar Melamina y Formaldehído no se encuentran estandarizadas, estos métodos fueron desarrollados como trabajos de investigación, debido a que actualmente no se conocen normas oficiales para detectar este tipo de productos.
- Hoy en día, aumenta la necesidad de conocer las condiciones de seguridad de los alimentos, debido al incremento de sustancias (aditivos), que se incorporan en el momento de preparación del alimento para poderlo preservar, estos aditivos facilitan el proceso de migración y conllevan a la alteración del producto, por esto, es importante investigar y desarrollar procedimientos para el control de calidad tanto del empaque como del alimento y así, garantizar un producto óptimo para su consumo.

BIBLIOGRAFIA

ICONTEC. NTC 5088: Plásticos: Determinación de aminas aromáticas primarias libres en colorantes empleados en la fabricación de plásticos para uso en contacto con alimentos y bebidas. 2002.

DIN 55610. Determination of unsulfonated primary aromatic amines. Alemania. 2009.

ICONTEC. NTC 5092: Plásticos: Métodos de ensayo para determinar metales pesados en colorantes empleados en la fabricación de productos plásticos para uso en contacto con los alimentos y bebidas. 2002.

COVENIN. 3239: Pigmentos utilizados en materiales y artículos destinados a estar en contacto con alimentos. Método de ensayo para la determinación de metales pesados. Venezuela. (1997).

ARIOSTI, A; FERNANDEZ, A; FERNANDEZ, G; MUNNIZA, G; y PICCO, P; Desarrollo de la metodología para la determinación de la migración específica de melamina y formaldehído en envases y materiales en contacto con alimentos. INTI, Instituto Nacional de Tecnología Industrial. 5° Jornada de desarrollo e innovación. Argentina. Noviembre 2004.

FÉREZ, Juana Gema. Nuevos métodos de pretratamiento de muestra para el análisis de alimentos mediante Cromatografía líquida. Título de grado: Doctor en Química. Murcia, España. Universidad de Murcia, 2014. 106-117p.

TORRES, Gina Alexandra. Estudio del efecto del tipo de Poliestireno usado como envase plástico para alimentos sobre migración global mediante espectroscopía IR-ATR y PCA. Título de grado: Magister en ciencias Químicas, Bogotá, D.C. Universidad Nacional de Colombia, 2016.

GARCIA, Verónica. Estudio de la migración de melamina en materiales destinados al contacto con alimentos. Título de grado: Máster en innovación en seguridad y tecnología alimentarias. Santiago de Compostela, España. Universidad de Santiago de Compostela. 2012.

SENDÓN, Raquel. Estudio de la migración de distintos componentes de los materiales plásticos a los alimentos. Trabajo de grado Doctor. Santiago de Compostela, España. Universidad de Santiago de Compostela. 2005.

CASTAÑEDA, Gerardo y MARTIN, José Mauricio. Determinación del nivel de cumplimiento de las sustancias migrantes de polietileno, polipropileno y sus laminados utilizados en el envasado del pan tajado convencional. Título de grado: Ingeniería de Alimentos. Bogotá, D.C. Universidad de la Salle. 2010.

ICONTEC. NTC 5023: Materiales, compuestos y artículos plásticos para uso en contacto con alimentos y bebidas. 2001.

Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 4143. Bogotá, 7, diciembre, 2012.

Grupo del sistema de análisis de riesgos químicos en alimentos y bebidas. Plan nacional subsectorial de vigilancia y control de migración de sustancias químicas en envases que están en contacto con alimentos y bebidas de consumo humano. Bogotá D.C. Instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, 2015, disponible: https://www.invima.gov.co/images/pdf/inspeccion_y_vigilancia/direccion-alimentos/Documento-tecnico-Programa-MOES-en-contacto-en-alimentos-vf-30-09-2015.pdf

Unidad de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos-UIERIA. Presencia de melamina en preparados líquidos para lactantes. Bogotá D.C. Instituto nacional de salud. 2011, disponible <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/CONCEPTO%20MELAMINA%20EN%20PREPARADOD%20LIQUIDOS.pdf>

Organización mundial de la salud. Reunión de expertos para revisar la toxicología de la melamina y el ácido cianúrico. Ottawa, Canadá. 2008.

SARMIENTO, Luis Guillermo. Migración en empaques y envases para alimentos. Revista de la asociación colombiana de ciencia y tecnología de alimentos. 1993. Disponible <http://www.alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/196/190>

NAVIA, Diana Paola; AYALA, Alfredo Adolfo; y VILLADA, Héctor Samuel. Interacciones empaque- alimento: migración. Revista de ingenierías Universidad de Medellín. Diciembre, 2013 – junio, 2014. Vol.13 No.25, p. 99-110.

LÓPEZ, Patricia. Interacciones especiales envase-alimento: alta temperatura y envase activo antimicrobiano. Tesis Doctoral. Zaragoza, España. Consejo económico y social de Aragón. 2007.

Departamento de salud y servicios humanos. Resúmenes de la salud pública-Formaldehído. Atlanta. Agencia de sustancias tóxicas y el registro de enfermedades, (6, mayo, 2016). https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs111.html

GALOTTO, M. J; VALENZUELA, X; GUARDA, A. Inocuidad de los envases plásticos destinados al envasado de alimentos, disponible <http://bvs.panalimentos.org/local/file/inclusiones2008/3PRIMER CONGRESO ARGENTINO MERCOSUR BPM POES HACCP2003estanaBVS/MONOGRAFIAS/4%20MONOGRAFIA%20Envases%20Galotto%20Chile.pdf>

ARCENALES, Carlos Alberto; ARCENTALES, Gustavo Alfredo. Análisis de efectos tóxicos que producen en la salud del ser humano, los empaques flexibles impresos con tintas de poliamidas y nitrocelulosa utilizados para empacar productos alimenticios e impacto en la gestión competitiva de las industrias del sector. Título: Magister en Administración de empresas. Guayaquil, Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil. Octubre, 2010.

VALERIO, Maria. Problemas renales. Que es la milamina?. Madrid. El mundo.es salud. 30 septiembre 2008. Disponible en internet: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2008/09/30/medicina/1222775518.html>

MARIN, Laura; MARTIN, Nuria; MARTINEZ, Marta. Adulteraciones con melamina. Deontología y veterinaria legal. 2013-2014. Disponible en internet: <https://www.google.com.co/search?ei=8yoXWrHAlcHSjwOFiJGwDw&q=melamina+2013-2014&oq=melamina+2013-2014&gs>

BUSTOS, Juana. Ensayos de migración específica en simulante E para compuestos secos (Tenax). Agencia española de Seguridad alimentaria y nutrición. España. Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad. 6, junio, 2013.